

Molekulare Architektur epikutikularer  
Wachskristalle und die Generierung biomimetischer  
Oberflächen zur Analyse von  
Grenzflächeninteraktionen in mikro- und  
nanoskaligen Dimensionen

Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)  
der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn  
vorgelegt von

Adrian Niemietz

aus

Oppeln

- Bonn 2011 -



Angefertigt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen  
Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. h.c. Klaus Wandelt
2. Gutachter: Prof. Dr. Sigurd Höger

Tag der Promotion: 24.05.2011

Erscheinungsjahr: 2011





## Für meine Familie



# Danksagung

Die hier vorliegende Dissertation wäre ohne die Hilfe zahlreicher Personen und Institutionen nicht möglich gewesen. Deshalb möchte ich ihnen an dieser Stelle herzlichst danken.

Als erstes möchte ich meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Dr. h.c. Klaus Wandelt vom Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der Universität Bonn für die Betreuung dieser Arbeit danken. Des Weiteren möchte ich mich bei ihm für die zahlreichen und hilfreichen Diskussionen, sein Vertrauen, Kritiken sowie Ratschläge und für jegliche Form von Unterstützung bedanken.

Herrn Professor Dr. Wilhelm Barthlott danke ich für die freundliche Aufnahme im Nees Institut für Biodiversität der Pflanzen Bonn, die Bereitstellung von Räumlichkeiten und Geräten, ohne die das Gelingen der Arbeit nicht möglich gewesen wäre, und für seine konstruktiven Verbesserungen der Vorträge und durchgeführten Arbeiten.

Mein Dank richtet sich auch an Herrn Professor Dr. Sigurd Höger vom Kekulé-Institut für Organische Chemie und Biochemie Bonn für die freundliche Übernahme des Korreferats.

Des Weiteren gilt mein Dank Herrn Professor Dr. Werner Mader für die Teilnahme in der Prüfungskommission und die Bereitstellung von Geräten zur Analyse der Kristallstrukturen der Wachse.

Auch Herrn Professor Dr. Lukas Schreiber vom IZMB der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn muss ich für die Möglichkeit der GC/MS-Analyse der Wachse in seinem Institut danken.

Herrn Professor Dr. Christoph Neinhuis vom Institut für Botanik der Technischen

Universität Dresden und seinem Mitarbeiter Herrn Markus Günther bin ich zum Dank für die Nutzung der hochauflösenden Elektronenmikroskopie verpflichtet.

Herrn Hans Jürgen Ensikat und Herrn Wolfgang Roden danke ich für die Geräte-einweisungen und deren Hilfe bei zahlreichen Analysen.

Von der Arbeitsgruppe „Grenzflächen“ des Nees Instituts möchte ich besonders Frau Dr. Petra Ditsche-Kuru für die fachliche Unterstützung und Herrn Oliver Hagedorn für die Bereitstellung einiger seiner REM-Bilder für diese Arbeit danken. Zusätzlich möchte ich meinen Dank ebenfalls an die gesamte Arbeitsgruppe „Grenzflächen“ für das angenehme und freundliche Arbeitsklima richten.

Auch der Arbeitsgruppe von Herrn Professor Dr. Dr. h.c. Klaus Wandelt, insbesondere Herrn Dr. Alexander Hommes, möchte ich für die Unterstützung und das angenehme Arbeitsklima danken.

Den Mitarbeitern der „Botanische Gärten der Universität Bonn“, besonders den Herren Josef Manner und Stefan Giefer, möchte ich für die Zurverfügungstellung von Pflanzenmaterial danken.

Frau Anne Kirschfink möchte ich für das schnelle und kompetente Korrekturlesen dieser Arbeit danken.

Neben Einzelpersonen und Gruppen möchte ich meinen Dank auch an die Cognis GmbH aus Monheim, und dort insbesondere an Herrn Dr. Mainx, für die Bereitstellung des verwendeten Tensids richten.

Ohne finanzielle Unterstützung seitens der DFG wäre ein Gelingen der Arbeit nicht möglich gewesen. Für diese Förderung im Forschungsprojekt KO 2221/2-1 „Biomimetische Oberflächen“ möchte ich mich herzlich bedanken.

Einen Dank möchte ich auch an meine Eltern richten, die mich kontinuierlich in jeglicher Form unterstützt haben.

Besonders hervorzuheben ist Frau Professor Dr. Kerstin Koch von der Hochschule Rhein-Waal in Kleve. Sie hat mir die Welt der funktionellen Oberflächen und der Superhydrophobie in der Botanik zugänglich gemacht. Ohne ihre Ratschläge, die fortwährende Hilfe und Unterstützung wäre die durchgeführte Arbeit nicht erfolgreich ver-

laufen. Dafür meinen herzlichsten Dank.



# Inhaltsverzeichnis

<b>Danksagung</b>	<b>vii</b>
<b>Vorwort</b>	<b>1</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>3</b>
1.1 Aufbau der pflanzlichen Kutikula . . . . .	3
1.2 Chemie und Morphologie der Wachse . . . . .	5
1.3 Selbstorganisation von Wachsen . . . . .	9
1.4 Funktionen der Wachse . . . . .	12
1.5 Zielsetzung . . . . .	15
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>19</b>
2.1 Pflanzenmaterial . . . . .	19
2.2 Verwendete Chemikalien und Substrate . . . . .	19
2.3 Wachsextraktion . . . . .	21
2.4 Präparationsmethoden . . . . .	22
2.5 Mikroskopie und Probenpräparation . . . . .	24
2.5.1 Lichtmikroskopie . . . . .	24
2.5.2 Rasterelektronenmikroskopie - REM . . . . .	25
2.5.3 Cryo-Rasterelektronenmikroskopie - Cryo-REM . . . . .	27
2.5.4 Helium-Ionen-Mikroskopie - HIM . . . . .	27
2.5.5 Rasterkraftmikroskopie - AFM . . . . .	28

2.5.6	Kontaktwinkelmessungen - KW . . . . .	30
2.6	Analyse und Probenpräparation . . . . .	31
2.6.1	Gaschromatographie und Massenspektrometrie - GC/MS . . . .	31
2.6.2	Röntgenpulverdiffraktometrie - XRD . . . . .	32
2.6.3	Dynamische Differenzkalorimetrie - DSC . . . . .	34
2.7	Rekristallisationsexperimente . . . . .	35
2.7.1	Substrate . . . . .	35
2.7.2	Rekristallisation aus Lösung . . . . .	36
2.7.3	Rekristallisation aus der Schmelze . . . . .	37
2.7.4	Rekristallisation mittels thermischer Wachsaufdampfung . . . .	38
2.8	Experimente zur Stabilität der Wachse . . . . .	40
2.8.1	Einfluss von Tensiden . . . . .	40
<b>ERGEBNISSE UND DISKUSSION</b>		<b>43</b>
<b>3 Chemische Zusammensetzung, Kristallstruktur und physikalische</b>		
<b>Eigenschaften der untersuchten Wachstypen</b>		<b>45</b>
3.1	Wachsschuppen . . . . .	47
3.1.1	Kristallstruktur der Wachsschuppen . . . . .	48
3.1.2	<i>Allium porrum</i> L. - Lauch . . . . .	50
3.1.3	<i>Iris germanica</i> L. - Schwertlilie . . . . .	52
3.1.4	<i>Baptisia australis</i> L. - Indigolupine . . . . .	56
3.2	Wachsröhrchen . . . . .	60
3.2.1	Kristallstruktur der Wachsröhrchen . . . . .	60
3.2.2	<i>Tropaeolum majus</i> L. - Kapuzinerkresse . . . . .	61
3.2.3	<i>Thalictrum flavum</i> ssp. <i>glaucum</i> L. - Wiesenraute . . . . .	65
3.3	Wachsfilme . . . . .	69
3.3.1	Kristallstruktur der Wachsfilme . . . . .	70
3.3.2	<i>Citrus limon</i> L. - Zitrone . . . . .	72
3.3.3	<i>Citrus sinensis</i> L. - Orange . . . . .	75



3.4	Dreikantige Stäbchen/Fäden . . . . .	78
3.4.1	<i>Hebe pinguifolia</i> L. - Strauchveronika . . . . .	78
3.5	Thermische Untersuchungen an Wachsen . . . . .	84
3.6	Diskussion 3.Kapitel . . . . .	88
<b>4</b>	<b>Rekristallisation von Wachsen zur Erzeugung biomimetischer Oberflächen</b>	<b>99</b>
4.1	Thermische Stabilität von Wachsgemischen . . . . .	100
4.2	Wachsschuppen . . . . .	102
4.2.1	Temperatureinfluss . . . . .	103
4.2.2	Lösungsmiteleinfluss . . . . .	106
4.2.3	Substrateinfluss . . . . .	116
4.3	Wachsröhrchen . . . . .	119
4.3.1	Temperatureinfluss . . . . .	120
4.3.2	Lösungsmiteleinfluss . . . . .	133
4.3.3	Substrateinfluss . . . . .	137
4.3.4	Vergleich von nativen und rekristallisierten Röhrchen . . . . .	138
4.4	Wachsgemische aus Schuppen und Röhrchen . . . . .	141
4.5	Wachsfilme . . . . .	147
4.5.1	Aufbau der Wachsfilme . . . . .	147
4.5.2	Substrateinfluss . . . . .	148
4.6	Diskussion 4. Kapitel . . . . .	152
<b>5</b>	<b>Einfluss von Tensiden auf die Stabilität der Wachse</b>	<b>173</b>
5.1	Tensideinfluss . . . . .	174
5.1.1	Berechnung der abgeschiedenen Tensidmenge . . . . .	175
5.1.2	Kontaktwinkeldaten . . . . .	176
5.1.3	Lichtmikroskopie . . . . .	181
5.1.4	Rasterelektronenmikroskopie . . . . .	182
5.2	Diskussion 5.Kapitel . . . . .	187

<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>195</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>201</b>

# Vorwort

Die hier vorliegende Dissertation, angefertigt am Nees Institut für Biodiversität der Pflanzen und dem Institut für Physikalische und Theoretische Chemie, beide Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, ist im Rahmen des gleichnamigen DFG-Forschungsprojektes „Molekulare Architektur epikutikularer Wachskristalle und die Generierung biomimetischer Oberflächen zur Analyse von Grenzflächeninteraktionen in mikro- und nanoskaligen Dimensionen“ (KO-2221/2-1) angefertigt worden. Ziel des Projektes war die Analyse der chemischen Zusammensetzung der epikutikularen Wachskristalle anhand ausgewählter Beispiele, die Übertragung ihrer Strukturen und Benetzungseigenschaften auf nicht biologische Oberflächen und die Durchführung von Experimenten zur Klärung der Stabilität der rekristallisierten und nativen Wachsstrukturen gegenüber Tensiden. Das Projekt wurde in Zusammenarbeit mit verschiedenen Forschungseinrichtungen und Industriepartnern durchgeführt. Die Forschungsarbeiten wurden hauptsächlich im Rahmen von zwei angefertigten Dissertationen an den oben genannten Instituten getätigt. Weiterführende Forschung im Bereich der Elektronenmikroskopie wurde am Institut für Botanik der Technischen Universität Dresden bei Prof. Dr. Neinhuis und im Bereich der Gaschromatographie und Massenspektrometrie am Institut für Zelluläre & Molekulare Botanik der Universität Bonn (IZMB) bei Prof. Dr. Schreiber durchgeführt. Das verwendete Tensid AGNIQUE SBO 10 wurde uns von Cognis GmbH, Monheim, zur Verfügung gestellt.



# Kapitel 1

## Einleitung

### 1.1 Aufbau der pflanzlichen Kutikula

Der Terminus „Cuticula“, im Deutschen Kutikula, kommt aus dem lateinischen und bedeutet Häutchen oder dünne Haut. Obwohl die Existenz einer pflanzlichen Kutikula erst seit etwa 220 Jahren bekannt ist (z.B.: RIEDERER & MÜLLER 2006<sup>97</sup>, MARTIN & JUNIPER 1970<sup>72</sup>), nutzte GREW schon 1682 diesen Begriff in Verbindung mit Pflanzenoberflächen.<sup>32</sup> Der Begriff selbst wurde erst 1827 von A.P. DE CANDOLLE auf die Pflanzen eingeschränkt.<sup>97</sup> Die Kutikula selbst wurde schon von vielen Wissenschaftlern mit unterschiedlichen Schwerpunkten untersucht und beschrieben (MARTIN & JUNIPER 1970<sup>72</sup>, HOLLOWAY et al. 1982a<sup>38</sup> und 1994<sup>37</sup>, SCHÖNHERR et al. 1982<sup>101</sup>, RIEDERER et al. 1989<sup>95</sup> und JEFFREE et al. 1996<sup>45</sup>).

Alle höheren Landpflanzen, mit Ausnahme ihrer Wurzeln und sekundären Abschlussgewebe (Rinde und Kork), sind von dieser Kutikula, die auch *cuticular membrane* (CM)(MARTIN & JUNIPER 1970<sup>72</sup>, JEFFREE et al. 1996<sup>45</sup>) genannt wird, bedeckt. Sie selbst ist eine dünne, extrazelluläre und kontinuierliche Schicht auf der Außenseite der Pflanze. Ihre Dicke variiert von unter 0,1  $\mu m$  bis zu über 10  $\mu m$  bei einigen Früchten und Xerophyten (HOLLOWAY et al. 1994<sup>37</sup>). Ihr Aufbau besteht aus mehreren, teilweise ineinander übergehenden Schichten, die durch unterschiedliche Che-

mie und Eigenschaften gekennzeichnet sind (Abbildung 1.1). Cutin ist hierbei der erste Hauptbaustein. Bei diesem unlöslichen Biopolymer handelt es sich um quervernetzte Polyester, die aus aliphatischen Hydroxycarbonsäuren mit Kettenlängen von  $C_{16}$  und  $C_{18}$  bestehen (BAKER et al. 1982a<sup>4</sup>, HOLLOWAY et al. 1982b<sup>36</sup>). Das zweite wichtige Biopolymer ist Cutan, ein Polycarbon Polymer. Beide können in verschiedenem Mengenverhältnis zueinander vorkommen, welches zudem während der Kutikulaontogenese variiert (TEGELAAR et al. 1990<sup>108</sup>). Der dritte Baustein der Kutikula sind die löslichen Wachse, d.h. Komponenten, welche sich durch Lösungsmittel wie Chloroform ( $CHCl_3$ ) aus der Pflanze und von der Oberfläche lösen lassen. Wachse lassen sich unterteilen in die in der Matrix eingelagerten intrakutikularen und die auf der Kutikula befindlichen epikutikularen Wachse. Da die Kutikula auch ein Bestandteil der Zellwand ist, enthält sie ebenfalls Polysaccharide. Zu ihren Funktionen zählt die Reduktion des

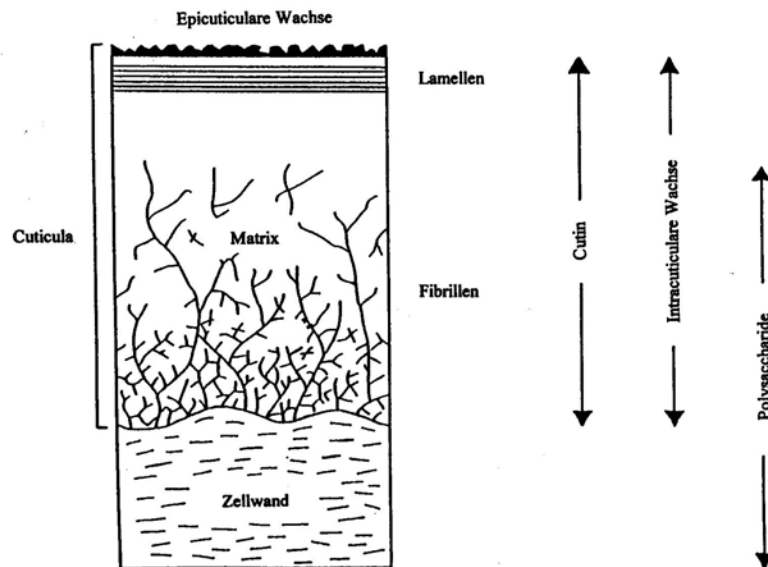


Abbildung 1.1: Schema einer Kutikula nach HOLLOWAY et al. (1994)<sup>37</sup>, verändert nach BARGEL et al. (2003)<sup>6</sup>

Wasserverlustes und der Schutz vor schädlichen Umweltfaktoren. Die sich auf der Kutikula befindenden Wachse erfüllen zusätzliche Funktionen, die ausführlicher im Kapitel 1.4 beschrieben werden.

## 1.2 Chemie und Morphologie der Wachse

In der Biologie und Chemie wird der Begriff „Wachs“ unterschiedlich aufgenommen. Chemisch gesehen gehören Wachse zur Stoffklasse der Lipide. Es handelt sich um Einfach-Ester von gesättigten Fettsäuren, womit sie sich von den Dreifachestern der Fette und Öle unterscheiden. Die Kohlenstoffanzahl der beiden Seitenketten schwankt zwischen 25 und 32 C-Atomen. Heutzutage werden Wachse nur über ihre mechanisch-physikalischen Eigenschaften definiert, da die chemische Zusammensetzung verschiedener Wachse sehr unterschiedlich sein kann.<sup>22</sup>

In der Biologie werden die in der Kutikula eingelagerten und aufgelagerten Lipide als Wachse bezeichnet. Sie bestehen aus einer Mischung von aliphatischen Kohlenwasserstoffen und deren Derivaten mit einer Kettenlänge zwischen 20 und 40 C-Atomen, im Fall von Estern aus bis zu 60 C-Atomen. Die Vielfalt der Wachse spiegelt sich in deren funktionellen Gruppen wider; primäre und sekundäre Alkohole, Carbonsäuren, Aldehyde, Ester, Ketone, aber auch Alkane. Es gibt noch weitere Arten von Wachsen, die aber selten oder nur in sehr geringen Mengen auf Pflanzen vorkommen (JETTER et al. 2006<sup>50</sup>). Die in vielen Arbeiten durchgeführten Wachsanalysen basieren auf einer Wachsextraktion mittels eines Lösungsmittels, welches neben den gewünschten epikutikularen auch die interkutikularen Wachse löst und somit eine saubere Trennung beider Wachsgemische nicht möglich macht (BAKER et al. 1982b<sup>3</sup>, RIEDERER & MARKSTÄDTER 1996<sup>96</sup>, KUNST & SAMUELS 2003<sup>66</sup>, JETTER et al. 2006<sup>50</sup>; ein Lösungsansatz wird im Kapitel 2.3 beschrieben). Zu der schon hohen Zahl an Komponenten in einem Wachsgemisch kommt noch die Tatsache hinzu, dass sich die Anzahl einzelnen Komponenten und deren Quantität während der Blattontogenese (JETTER & SCHÄFFER 2001<sup>49</sup>, SCHNEIDER et al. 1990<sup>100</sup>) oder durch Umweltveränderungen (z.B. starke Lichtintensität (BAKER et al. 1982a<sup>4</sup>, CAMERON et al. 2006<sup>19</sup>)) ändern kann. Der in dieser Arbeit verwendete Begriff „Wachs“ entspricht der Definition aus der Biologie.

Epikutikulare Wachse kann man auf Oberflächen zum Teil sogar optisch wahr-

nehmen, z.B. als matten, grauen Belag auf manchen Früchten (Pflaumen oder Trauben). Jedoch sind viele dieser Wachse für das bloße menschliche Auge nicht erkennbar, erst das Rasterelektronenmikroskop (REM) macht deren große Vielfalt in Bezug auf Struktur und Größe sichtbar. Die Beschreibung der einzelnen Wachstypen und deren Terminologie wird durch BARTHLOTT et al. (1998)<sup>9</sup> und JEFFREE et al. (2006)<sup>44</sup> festgelegt. In dieser Arbeit werden folgende Wachsstrukturen untersucht:

- Zweidimensionale Wachse

**Wachsfilme** Hierbei handelt es sich um sehr dünne Wachsschichten, teilweise nur wenige Nanometer dünn, die nur schwer im REM sichtbar gemacht werden können. *Citrus limon* L. und *Prunus laurocerasus* L. besitzen solche dünnen Wachsfilme. Bei Wachsfilmen mit zunehmender Dicke spricht man von Wachsschichten. Zu einigen der Hauptkomponenten, die in ihrer Komposition teilweise stark schwanken, zählen langkettige primäre Alkohole, Alkane und Ester (*C. limon* L. (RIESCH 1990<sup>93</sup>)), oder Gemische unterschiedlicher Komponenten (*P. laurocerasus* L. (JETTER et al. 2000<sup>51</sup>)).

- Dreidimensionale Wachsstrukturen

**Wachsschuppen** Zu dieser Gruppe zählen mehrere Formen von flächigen Strukturen, die mit ihrer schmalen Kante auf der Oberfläche auflagern. Dazu zählen alle einfach geformten (regelmäßige, teilweise halbrunde und nahezu senkrecht zur Oberfläche stehende Wachsstrukturen), irregulären (unregelmäßig geformte Wachsstrukturen) und membranösen (vernetzte, unregelmäßige und ohne feste Orientierung wachsende Wachsstrukturen) Wachsschuppen. Wachsplättchen sind ebenfalls Kristalle verschiedener Größe und Form, die sich jedoch mit ihrer *liegenden* Ausrichtung von Wachsschuppen unterscheiden. Diese beiden Strukturen basieren hauptsächlich auf drei verschiedenen Komponenten, den primären Alkoholen (*Triticum* (Weizen) und *Eucalyptus* (BAKER et al. 1982b<sup>3</sup>, KOCH et al. 2006a<sup>56</sup>)), den Ketonen



(*Allium porrum* L. (Porree) (JEFFREE et al. 2006<sup>44</sup>)) und den Aldehyden (*Saccharum officinarum* Salisb. (Zuckerrohr) und *Oriza sativa* L. (Reis), HAAS et al. (2001)<sup>33</sup>).

**Wachsstäbchen** Die Natur kann auch bei dieser Wachsstruktur eine Vielzahl von Unterstrukturen vorweisen. Stäbchen unterscheiden sich von Fäden und Haaren durch ein Längen- zu Breitenverhältnis von maximal 50:1. Kantige Stäbchen mit 3-10 Facetten weisen im Querschnitt eine typisch polygonale Form auf, womit sie sich von runden (Durchmesser über 0,2  $\mu m$ ) und gewundenen (Durchmesser unter 0,2  $\mu m$ ) Stäbchen unterscheiden (BARTHLOTT et al. 1998<sup>9</sup>). Ein Sondertyp sind die querverrieften Stäbchen, die durch transversal zur Achse verlaufende Einschnürungen charakterisiert werden. Während die Wachsfilme der Zitrone (Frucht, *C. limon* (BAKER et al. 1982b<sup>3</sup>)) einen hohen Anteil an Aldehyden aufweisen, ist auf Blättern von *Aristolochia gigantea* L. der Anteil von einem Keton in den querverrieften Stäbchen am höchsten (Hentriacontan-16-on, MEUSEL et al. 1999<sup>74</sup>).

**Wachsröhrchen** Wachsröhrchen sind zylindrische und damit hohle und längliche Strukturen, deren terminale Öffnung in REM und AFM sichtbar wird.<sup>1</sup> Bei den zwei dominierenden Typen sind die Hauptkomponenten für die Namensgebung verantwortlich, Nonacosan-10-ol und  $\beta$ -Diketon. Nonacosanolröhrchen weisen neben den primären Alkoholen auch geringe Mengen von sekundären Alkoholen (z.B. Nonacosan-4,10-diol in *Tropaeolum majus* L.) auf (HOLLOWAY et al. 1976<sup>40</sup>, JETTER & RIEDERER 1994<sup>47</sup>, 1995<sup>48</sup>, KOCH et al. 2006b<sup>58</sup>, WEN et al. 2007<sup>113</sup>). Sie sind etwa 0,5-3  $\mu m$  lang und haben einen Durchmesser von 200-230 nm (KOCH et al. 2006b<sup>58</sup>, SCHAPER et al. 2006<sup>99</sup>). Unter speziellen Bedingungen ist es möglich, auch ohne die Präsenz eines Diols Wachsröhrchen zu rekristallisieren (JETTER & RIEDERER 1994<sup>47</sup>).  $\beta$ -Diketon-Röhrchen sind bis zu 10  $\mu m$  lang, aber mit einem

---

<sup>1</sup>Die Öffnung der Röhrchen ist nicht immer im REM sichtbar. Das Besputtern mit Gold kann sie unter Umständen verschließen, dennoch handelt es sich um Röhrchen und keine Stäbchen.

Durchmesser von 0,2-0,3  $\mu\text{m}$  nur geringfügig dicker als Nonacosanolröhrchen. Die Hauptkomponente Hentriacontan-14-16-dion wurde auf einigen *Eucalyptus* Arten nachgewiesen (MEUSEL et al. 2000<sup>75</sup>). Neueren Definitionen nach JEFFREE et al. (2006)<sup>44</sup> zufolge gibt es insgesamt vier Arten von Röhrchen: Nonacosanol-,  $\beta$ -Diketon-, Alkandiol- und  $\delta$ -Lactonröhrchen.

Eine tabellarische Zusammensetzung der am häufigsten vorkommenden Wachse wird in Tabelle 1.1 gezeigt.

Tabelle 1.1: Chemische Komponenten von epikutikularen Wachsen (BIANCHI et al. 1995a<sup>14</sup>)

Chem. Komponente & Formel	Kettenlänge	Komponenten
<i>n</i> -Alkan $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$	$C_{21} - C_{35}$ ungerade	$C_{27} - C_{31}$
Alkylester $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COO}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$	$C_{34} - C_{62}$ gerade	$C_{40}, C_{50}$
Carbonsäuren $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$	$C_{16} - C_{32}$ gerade	$C_{22} - C_{28}$
prim. Alkohole $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{OH}$	$C_{22} - C_{32}$ gerade	$C_{26} - C_{32}$
Aldehyde $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CHO}$	$C_{22} - C_{32}$ gerade	$C_{26} - C_{32}$
sek. Alkohole $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CHOH}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$	$C_{23} - C_{33}$ ungerade	$C_{29}, C_{31}$
Ketone $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$	$C_{23} - C_{33}$ ungerade	$C_{29}, C_{31}$
$\beta$ -Diketone $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COCH}_2\text{CO}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$	$C_{27} - C_{33}$ ungerade	$C_{31}, C_{33}$
Hydroxy- $\beta$ -diketone $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COCH}_2\text{CO}(\text{CH}_2)_m\text{CHOH}(\text{CH}_2)_z\text{CH}_3$	$C_{27} - C_{33}$ ungerade	$C_{31}, C_{33}$
Oxo- $\beta$ -diketone $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COCH}_2\text{CO}(\text{CH}_2)_m\text{CO}(\text{CH}_2)_z\text{CH}_3$	$C_{29} - C_{31}$ ungerade	$C_{31}$

Alle dreidimensionalen Wachsstrukturen wachsen direkt auf der Kutikularmembran (HALLAM & JUNIPER 1971<sup>35</sup>, BARTHLOTT et al. 1998<sup>9</sup>, ENSIKAT 2000<sup>27</sup>) oder

sind, wie es KOCH 2004 und später bewies, in einen Wachsfilm eingelagert (KOCH et al. 2004<sup>61</sup> und 2006a<sup>56</sup>). Eine mechanische Isolation mittels Glycerin (ENSIKAT et al. 2000<sup>27</sup>) und darauf folgende Begutachtung in REM oder AFM (KOCH et al. 2004<sup>61</sup>) machen diesen Film sichtbar (Abbildung 1.2). Auf die Kristallinität der Wachse wird kurz im nächsten Kapitel (1.3) eingegangen.

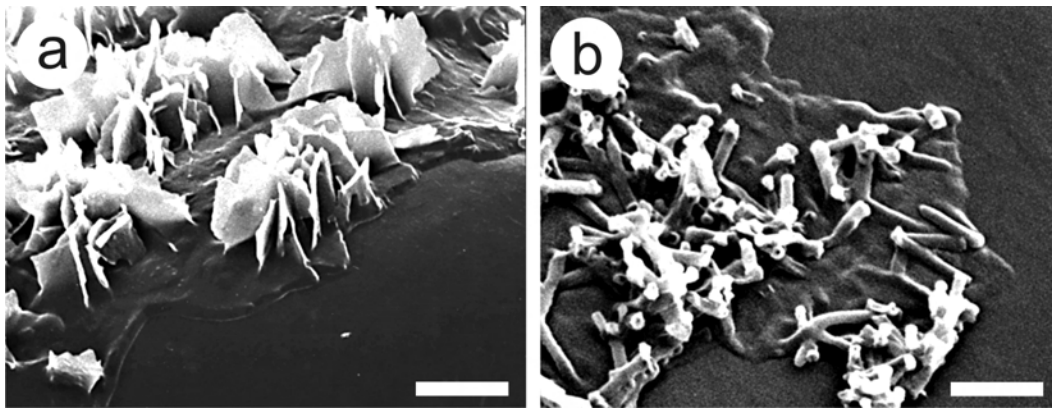


Abbildung 1.2: REM-Aufnahmen von mechanisch isolierten Wachsen, aufgebracht auf technischen Oberflächen : (a) Wachsfilm und Schuppen von *Euphorbia resinifera*; (b) Wachsfilm und Röhrchen von *Tropaeolum majus* (KOCH et al. 2004<sup>61</sup>), Details über die Methode im Kapitel 2.3; Skalen: 3  $\mu\text{m}$  (a), 1  $\mu\text{m}$  (b)

### 1.3 Selbstorganisation von Wachsen

Um den „self-assembly“-Prozess näher zu verstehen, muss man sich zuvor den (chemischen und physikalischen) Eigenschaften der Wachse widmen. Eine allgemein verbreitete Meinung ist, dass epikutikulare Wachsstrukturen und der sich darunter befindliche Wachsfilm amorph sind, obwohl man schon seit längerem diesen Wachsstrukturen einen kristallinen Charakter in der Literatur zuteilte (ULOTH 1867<sup>109</sup>, DE BARY 1871<sup>21</sup>). KREGER<sup>65</sup> folgerte 1948 aus seinen Beugungsexperimenten, dass tatsächlich Kristallinität bei epikutikularen Wachsen vorliegt.

Die Chemie legt die Morphologie und die Kristallstruktur der Wachsstruktur fest.

Eine klare Ordnung ist bei Schuppen (z.B. aus Octacosanol) beobachtbar, bei Röhrchen kommt es hingegen zu Abweichungen von der Definition, welche eine regelmäßige Nahordnung der Moleküle oder Atome besagt. Während Octacosanolschuppen und andere Strukturen eine orthorhombische Anordnung annehmen, ist der Fall bei Nonacosanolröhrchen komplizierter. Durch die Hydroxyl-Gruppe am zehnten Kohlenstoffatom wird die mögliche orthorhombische Ordnung verhindert und es entstehen lokale Bereiche eines veränderten Gitters (ENSIKAT et al. 2006<sup>26</sup>). Bei gleichlangen (LARSSON et al. 1994<sup>69</sup>) und verzweigten (RASTOGI et al. 2002<sup>90</sup>) *n*-Alkanen und den eben erwähnten Nonacosanolröhrchen wurde auch die Bildung von triklinischen Symmetrien beobachtet. Dennoch ist nicht jede funktionelle Gruppe einer einzigen Morphologie zuzuordnen, sondern kann mehrere verschiedene, je nach gewählten Rekristallisationsbedingungen, verursachen (JEFFREE et al. 1975<sup>46</sup>, JETTER & RIEDERER 1994<sup>47</sup>, MEUSEL et al. 2000<sup>75</sup>).

Mittels Röntgen- und Elektronenbeugung ist es möglich, die Abstände der Molekülketten zu vermessen. Aufgrund des unterschiedlichen Verhältnisses zwischen Länge und Breite der Moleküle werden zwei unterschiedliche Abstände sichtbar, die „short“ und „long spacings“. Short spacings bezeichnen den lateralen Abstand der Ketten, die long spacings die Dicke der Molekülschicht und die Position der funktionellen Gruppen, was eine Charakterisierung ermöglicht. Alkane mit funktionellen Gruppen, z.B. der primäre Alkohol Octacosanol, nehmen eine Orientierung an, bei der es zu einer Kopf-Kopf-Anordnung kommt, die polaren Gruppen treten in Wechselwirkung miteinander und bilden somit eine Doppelstruktur. Ein weiterer auftretender Effekt beruht auf dem Fakt, dass epikutikulare Wachse aus einer Vielzahl von Komponenten bestehen. Die unterschiedlichen Kettenlängen der Kohlenwasserstoffe bilden Unregelmäßigkeiten aus, die zu unterschiedlichen Werten bei den lateralen Abständen im Gitter führen.

Die Selbstorganisation von Kristallen beschreibt eine Entropieänderung, welche sich bei epikutikularen Wachsen durch anisotropes Wachstum betont zeigt. Röhrchen, Stäbchen und auch Schuppen haben ein verstärktes Wachstum in eine Vorzugsrichtung (KOCH et al. 2004<sup>61</sup> und 2006b<sup>58</sup>). Tatsächlich sind die Nonacosanolmoleküle chiral,

nur das S-Enantiomer ist auf der Pflanze auffindbar, bei einem technisch hergestellten Racemat setzt keine Röhrenchenbildung ein (JETTER & RIEDERER 1994<sup>47</sup>). Im Gegenzug bildet das nicht chirale Hentriacontan-14,16-dion Röhrenchen in einer hexagonal ähnlichen Struktur. Die ebenfalls vorhandene Kristallinität bei Wachsfilmern spielt eine wichtige Rolle bei der Erfüllung ihrer Funktionen. VOGG<sup>110</sup> wies 2004 nach, dass die Permeabilität einer kristallinen zu einer amorphen Schicht geringer ist, d.h. der Wasserverlust der Pflanze durch Transpiration ist erniedrigt (siehe Kapitel 1.4). Dieser Film füllt zugleich die Zwischenräume der Strukturen aus und sorgt für eine geschlossene Wachsschicht.

Bei Anwendung auf technischen Oberflächen verschiedener kristalliner Anordnung oder Polarität, z.B. der Rekristallisation aus Lösung auf Glas und HOPG (hoch geordneter pyrolytischer Graphit), gewinnt dieser Film an Bedeutung, da mit zunehmender Dicke der Templateffekt der Unterlage abgeschwächt oder sogar unterdrückt wird und die Ausrichtung der Wachsstrukturen nicht mehr die Ordnung der Unterlage spürt. Bei geringen Wachsmengen bekommen Wachsröhrenchen auf polarem Glas und Silizium mit nativer Oxidschicht eine horizontale Ausrichtung, auf unpolarem, hexagonalem HOPG wachsen sie senkrecht zur Oberfläche (KOCH et al. 2006a<sup>56</sup> und 2006b<sup>58</sup>).

Selbstorganisation ist definiert als spontane und reversible Organisation von gegebenen Komponenten mit Hilfe der nicht-kovalenten Wechselwirkungen (WHITESIDES et al. 2002a<sup>116</sup>). Durch diese verschiedenen Wechselwirkungen (Wasserstoffbrückenbindungen, van-der-Waals- und Coulomb-Kräfte (ZHANG et al. 2002<sup>121</sup> & 2003<sup>120</sup>)) wird der Prozess gesteuert und durch vier weitere Faktoren, den Komponenten, der Reversibilität, dem Massentransport und den Umgebungsfaktoren, beeinflusst (WHITESIDES et al. 2002b<sup>115</sup>). Zur Beschreibung der Selbstorganisationsprozesse der Wachse kann man Tenside als Näherung hinzuziehen. Wie fast alle Wachse haben auch sie sowohl eine hydrophobe als auch eine hydrophile Gruppe, wobei sich gleiche Gruppen zueinander anordnen. Hier spielen sowohl die Wechselwirkung eine Rolle als auch die Komponenten, aus denen sich ein Gemisch zusammensetzt. Nur beim Vorhandensein von polaren Gruppen können auch entsprechende elektrostatische Kräfte auftreten,

während bei Alkanen van-der-Waals und hydrophobe Wechselwirkungen dominieren. Der self-assembly-Prozess ist auch immer mit einem Massentransport verbunden. Im Falle von Adsorption docken Moleküle an Oberflächen an und reduzieren die Oberflächenenergie. Ist die zur Verfügung stehende oder zugeführte Energie größer als die Aktivierungsenergie für Diffusion  $E_D$ , beginnen sich die Moleküle auf der Oberflächen zu bewegen und finden, je nach Energie, Konzentration und Substrat, schneller oder langsamer zueinander. Dabei richten sie sich entsprechend ihrer hydrophilen und hydrophoben Gruppen aneinander aus und bilden stabile Schichten (LE POULENNEC et al. 2000<sup>70</sup>). Dieser gesamte Prozess ist auch reversibel, z.B. durch die Zugabe eines Lösungsmittels wie Chloroform lösen sich die gebildeten Wachsstrukturen wieder auf und können sich, nach dem Verdampfen des Lösungsmittels, erneut selbst organisieren.

## 1.4 Funktionen der Wachse

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit Fragestellungen zu epikutikularen Wachsen, dennoch sollen auch die Aufgaben der intrakutikularen Wachse kurz präsentiert werden. Abbildung 1.3 zeigt ein Schema der wichtigsten Funktionen der Kutikula (BARGEL et al. 2006<sup>7</sup>, modifiziert durch KOCH et al. 2009<sup>57</sup>).

**A: Transpirationsreduktion** Nicht nur Wüstenpflanzen, sondern auch Pflanzen anderer Breitengrade, müssen einen Mechanismus besitzen, der den Wasserverlust minimiert. Die aus mehreren Schichten bestehende Kutikula besitzt, durch ein Netzwerk von mehreren Komponenten (siehe Kapitel 1.1), unter anderem den intrakutikularen Wachsen, diese Eigenschaft. Sie verhindert zudem eine Abgabe von Zellmolekülen nach außen (RIEDERER & SCHREIBER 1995<sup>94</sup>, KERSTIENS et al. 1996<sup>52</sup>, BURGHARDT et al. 2006<sup>18</sup>). Solange die Grenzsicht intakt ist, wird die Aufnahme von (schädlichen) Substanzen und Wirkstoffen, wie sie in der konventionellen Landwirtschaft zum Einsatz kommen, verhindert oder vermindert. Deswegen sind vielen Produkten oft Tenside beigefügt, die Wachse auflösen und

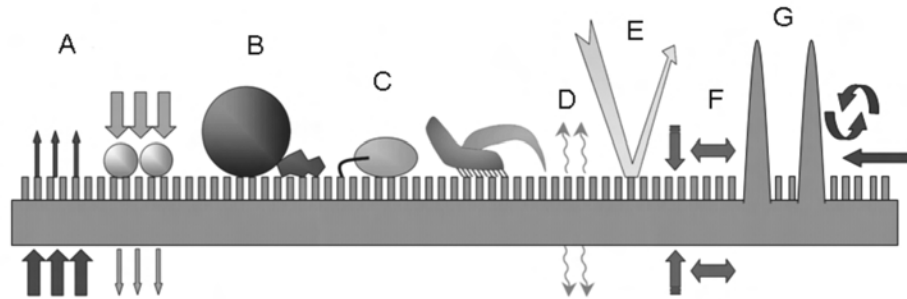


Abbildung 1.3: Schema der wichtigsten Funktionen der Kutikula: A: Transpirationsreduktion, B: Selbstreinigung, C: Abwehrfunktion, D: Signalweitergabe, E: Strahlungsschutz, F: Stressresistenz, G: Mikroklimatezeugung (KOCH et al. 2009<sup>57</sup>)

somit durchlässig für die Wirkstoffe machen (TAMURA et al. 2001<sup>107</sup>, siehe auch Kapitel 1.5 und 5).

**B: Selbstreinigung** Sehr viele Pflanzenoberflächen besitzen die Selbstreinigungseigenschaft, wobei der Lotus (*Nelumbo nucifera*) dies am besten demonstrieren kann. Nicht nur Wasser, auch Flüssigkeiten höherer Viskosität, wie lösungsmittelfreier Kleber und sogar Honig, perlen einfach ab. Eine papillöse Epidermis in Kombination mit aufgelagerten epikutikularen Wachsen bildet eine Doppelstruktur aus, die die Adhäsion aufliegender Objekte auf ein Minimum reduziert. Ein abperlender Tropfen ist somit in der Lage sowohl hydrophile, als auch hydrophobe Schmutzpartikel mit sich zu reißen (BARTHLOTT & NEINHUIS 1996<sup>10</sup>, NEINHUIS & BARTHLOTT 1997<sup>78</sup>, FÜRSTNER et al. 2005<sup>30</sup>).

**C: Abwehrfunktion** Die Selbstreinigung und die geringe Adhäsion dienen nicht nur der Reduzierung der Verschmutzung, sie dienen auch zur Abwehr von Mikroorganismen und Insekten. Pilzsporen werden beim nächsten Regen herunter gewaschen, und Insekten finden auf bestimmten Zonen von Kannenpflanzen keinen Halt und rutschen ins Innere ab, wo sie als Nahrung für die Pflanze dienen (GORB

et al. 2005<sup>31</sup>).

**D: Signalweitergabe** Die Kutikula ist in der Lage Signale durch Botenstoffe ins Innere auszusenden, um erforderliche Reaktionen aufzurufen. Eine Beschädigung der Kutikula führt zu Gegenmaßnahmen, die eine Reparatur in Gang setzen. Bei Fressfeinden kann sie ebenfalls durch Botenstoffe Bitterstoffe aktivieren, die den Geschmack des Blattes ändern, was eine mögliche Vertreibung des Feindes zur Folge hat (RHOADES et al. 1979<sup>92</sup>, DICKE et al. 1999<sup>23</sup>).

**E: Strahlungsschutz** Sowohl Blätter als auch Früchte sind, neben sichtbarem Licht, ebenfalls permanent schädlicher UV- und wärmender IR-Strahlung ausgesetzt. Ohne einen Schutz würden sie sich zu stark erwärmen, was ihre Ontogenese und Photosynthese erheblich behindern oder gar unterbrechen würde. Eine Abschwächung der Strahlung durch Reflexion durch die Wachsschicht dient der Pflanze als einziger Schutzmechanismus, um dadurch UV-Schäden und Überhitzung zu mindern (BARNES et al. 1996<sup>8</sup>, HOLMES et al. 2002<sup>41</sup>).

**F: Stressresistenz** Mechanischer Stress kann bei steifen Körpern zur Verformung oder sogar zum Bruch führen. Die Kutikula besteht aus Biopolymeren, die dem Blatt sowohl eine gewisse Steifigkeit als auch Flexibilität und Verformbarkeit geben. Die mechanischen Eigenschaften sind vergleichbar mit denen von technischen Polypropylen-Membranen bei vergleichbarer Dicke (PETRACEK et al. 1995<sup>89</sup>, BARGEL & NEINHUIS 2005<sup>5</sup>).

**G: Mikroklimaerzeugung** Sonnen- und wärmeexponierte Pflanzen sind in der Lage, mit Hilfe unterschiedlicher Strukturierung ihrer Oberflächen die Kontaktfläche, die durch Wind gekühlt wird, zu erhöhen, indem zusätzlich eine Konvektionskühlung und somit ein Mikroklima geschaffen wird.

Der unter Punkt **B** beschriebene Lotus-Effect basiert auf der Tatsache, dass die Wachsstrukturen in Verbindung mit der Blattstruktur superhydrophobe Eigenschaften



besitzen. Von superhydrophoben Charakteristika spricht man, wenn der Kontaktwinkel zwischen Tropfen und Oberflächen  $\geq 150^\circ$  ist. Diese und kleinere Winkel sind in Abbildung 1.4 gezeigt.

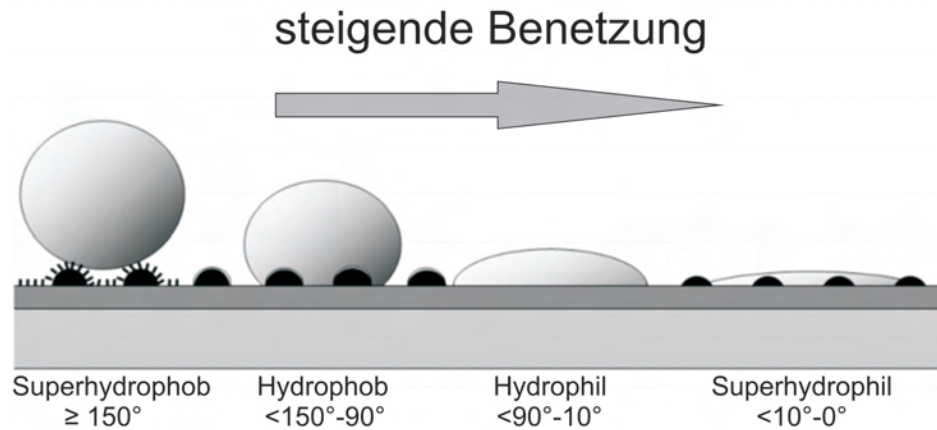


Abbildung 1.4: Einteilung der einzelnen Kontaktwinkel in superhydrophob, hydrophob, hydrophil und superhydrophil (KOCH et al. 2009<sup>57</sup>)

An dieser Stelle sollen kurz die beiden bekanntesten Benetzungsstadien beschrieben werden. Zum einen ist es das CASSIE-BAXTER-Stadium<sup>20</sup>, bei dem ein Tropfen lediglich die Spitzen der Wachsstrukturen berührt. Damit ist eine geringe Adhäsionskraft und leichtes Abrollen des Tropfens gewährleistet. Das Gegenmodell ist von WENZEL<sup>114</sup> beschrieben worden. Dabei dringt ein Tropfen auch zwischen die Wachsstrukturen und erhöht die Kontaktfläche und somit auch die Adhäsion. Neben diesen beiden Modellen gibt es weitere, die Zwischenstadien oder andere adhäsionssteigernde oder -senkende Effekte beschreiben (siehe z.B.: air pockets, BHUSHAN et al. 2009<sup>12</sup> oder WANG et al. 2007<sup>111</sup>).

## 1.5 Zielsetzung

Der Fokus dieser Arbeit wurde auf die Bildung von Wachsstrukturen gelegt, wovon, aufgrund ihrer Vielzahl, nur vier Typen ausgewählt wurden: Wachsschuppen, Wachs-röhrchen, Wachsstäbchen und Wachsfilme.

Am Beispiel der ausgewählten Wachse sollen drei aufeinander aufbauende Themengebiete bearbeitet werden:

1. Chemische Zusammensetzung der Wachse
2. Self-Assembly und die Generierung von biomimetischen Oberflächen
3. Morphologische Veränderungen der Wachsstrukturen durch Tenside

Die Grundlage bildet die chemische Zusammensetzung der einzelnen Wachsstrukturen. Besonderes Augenmerk wird hierbei auf die wenigen strukturbestimmenden Komponenten gerichtet. Bei Wachsen mit einem dreidimensionalen Aufbau sollen zudem neue Methoden zur Trennung von dreidimensionalen Wachsstrukturen und den sich darunter befindlichen zweidimensionalen Wachsfilmern entwickelt werden. Diese Erkenntnisse können dann in der darauffolgenden Phase dazu genutzt werden, um die dreidimensionale Wachsstruktur, und damit auch ihre Funktionen, auf technischen Oberflächen zu erzeugen. Kristallographische Untersuchungen sollen zusätzlich zeigen, dass die untersuchten Wachse kristallin sind und welcher der drei Kristallklassen sie zuzuordnen sind.

Diese Erkenntnisse fließen dann in den zweiten Teil der Arbeit, welcher sich mit der Wachsrekristallisation auf technischen Oberflächen beschäftigt, ein. Hierbei gilt es, Kristallisationsbedingungen zu finden, welche eine homogene Beschichtung technischer Oberflächen mit Wachsen ermöglicht, bei der die Strukturen der Wachse denen auf den Pflanzen entsprechen. Die Wachsaufbringung selbst wird durch mehrere Methoden, die standardmäßig benutzt werden, durchgeführt; die Rekristallisation aus der Schmelze, aus Lösung und durch Aufdampfen mittels thermischer Deposition. Beim Rekristallisationsprozess selbst sollen die Grundlagen von self-assembly unter variablen Bedingungen näher erforscht werden.

Die erzeugten biomimetischen Oberflächen mit der Wachsbeschichtung dienen als Ausgangspunkt für den dritten Teil der Arbeit. Hierbei sollen Versuche zur Stabilität der Wachsstruktur im Hinblick auf die Einwirkung von Tensiden, die eine zentrale

Rolle in der konventionellen Landwirtschaft einnehmen, erfolgen. Die Untersuchung der Wachs-Tensid-Wechselwirkungen sollen dabei in den Fokus rücken, da sie die Eigenschaft besitzen, diese Wachsstrukturen zu schädigen und damit die Funktionen der Wachse beeinträchtigen.

Die erzielten Ergebnisse sollen zur Erkenntnisgewinnung über pflanzliche Grenzflächen beitragen und als Hilfe bei der Erforschung von umwelt- und pflanzenverträglichen Mitteln in der Landwirtschaft dienen.



# Kapitel 2

## Material und Methoden

### 2.1 Pflanzenmaterial

Um möglichst viele unterschiedliche Wachsstrukturen zu untersuchen, wurden Wachse verschiedener Pflanzen extrahiert. Das gesamte untersuchte Pflanzenmaterial bis auf *Citrus sinensis* L. und *Citrus limon* L., welche von einer ökologisch orientierten Plantage nahe Madrid kommen, stammt aus den „Botanischen Gärten der Universität Bonn“. Durch den Verzicht auf Pflanzenschutzmittel sind die Wachse chemisch unverändert geblieben und verfälschen somit nicht die Analysen, die im Kapitel 3 gezeigt werden. Tabelle 2.1 zeigt eine Aufstellung des verwendeten Pflanzenmaterials. Zusätzlich ist die Erntezeit angegeben, da sich die Wachschemie während der Blattontogenese verändern kann (SCHNEIDER et al. 1990<sup>100</sup>, JETTER & SCHÄFFER 2001<sup>49</sup>).

### 2.2 Verwendete Chemikalien und Substrate

In dieser Arbeit wurde eine große Anzahl verschiedener Chemikalien und Substrate verwendet. Tabelle 2.2 listet sie dementsprechend auf. Alle verwendeten Substrate wurden mit Chloroform von möglichen (organischen) Rückständen befreit, indem sie einige Zeit in dem Lösungsmittel bei 40 bis 50°C gekocht wurden. Bei HOPG war dies nicht nötig, da die verwendeten Schichten jedesmal vom Kristall frisch abgezogen wurden.

Tabelle 2.1: Aufstellung der einzelnen Pflanzen mit Akzessionsnummer der Botanischen Gärten Bonn und Erntezeit

Pflanze (wiss. Name)	eingebürgerter Name	Akzessions- nummer	Erntezeit
<i>Allium porrum</i> L. <i>var. Alaska</i>	Lauch	-	Juni-Juli 07
<i>Baptisia australis</i> L.	Indigolupine	5810	Juli-August 07
<i>Citrus limon</i> L.	Zitrone	Spanien	März 08
<i>Citrus sinensis</i> L.	Orange	Spanien	März 08
<i>Hebe pinguifolia</i> L.	Strauchveronika	9512-9-1990	Juni-Juli 07
<i>Iris germanica</i> L.	Schwertlilie	6400	Mai-Juni 08 + 09
<i>Prunus laurocerasus</i> L.	Kirschlorbeer	29831	Juni-Juli 09
<i>Thalictrum flavum</i> <i>ssp. glaucum</i> L.	Wiesenraute	2700-9-1979	Mai-Juni 07
<i>Tropaeolum majus</i> L.	Kapuzinerkresse	19727-9-1990	Mai-Juli 07 + 08

Tabelle 2.2: Aufstellung der verwendeten Chemikalien und Substrate

Chemikalien/ Substrate	Chemische Formel	Hersteller	Reinheitsgrad
Chloroform	$CHCl_3$	AppliChem	HPLC
Triethylenglycol	$C_6H_{14}O_4$	Merck	$\geq 99\%$
Ethanol	$C_2H_5OH$	Carl Roth GmbH	$\geq 96\%$ mit 1% MEK
dest. Wasser	$H_2O$	Wilhelm Werner GmbH	-
Glas	$SiO_2$	Thermo Scientific	-
HOPG	$C$	SPI Supplies	Grad SPI-2
Silizium*	$Si$	MaTeck	99,9999%
Aluminiumfolie*	$Al$	handelsübliche Folie	-

\* oberflächlich  
oxidbedeckt

## 2.3 Wachsextraktion

Für die Gewinnung der benötigten Mengen an Wachsen für Rekristallisationsexperimente wurden unterschiedliche Wachsgewinnungsmethoden eingesetzt.

- Lösungsmittlextraktion

**Chloroformextraktion** Hierbei werden mehrere Blätter bei Raumtemperatur in ein mit Chloroform (AppliChem, A1571.2500, HPLC-Qualität, Darmstadt) gefülltes Becherglas getaucht. Die Eintauchzeit wird dabei je nach Pflanzenart variiert, da es leicht- und schwerlösliche Wachskomponenten gibt. Eine längere Eintauchzeit begünstigt die Lösung von intrakutikularen Substanzen, die nicht in allen Proben erwünscht sind, da sie beispielsweise eine Rekristallisation der Wachse beeinflussen können (KOLATTUKUDY et al. 1970<sup>64</sup>, 1980<sup>63</sup>, BAKER et al. 1982b<sup>3</sup>, BIANCHI et al. 1995b<sup>15</sup>).

Zur groben Befreiung von Schmutz wurde die Lösung mit Hilfe eines Cellulosefilters (Schleicher & Schuell, Nr. 594 Rundfilter, Dassel) gereinigt. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels konnte das Wachs als Pulver dem Becherglas entnommen werden.

- Mechanische Separation

**Stempelmethode** Diese Methode wird eingesetzt, um die dreidimensionale Struktur des Wachses von der zweidimensionalen Schicht zu trennen. Dazu wird ein Blatt auf ein Substrat, in unserem Fall auf Aluminiumfolie, welche zuvor mit Chloroform gereinigt wurde, gedrückt. Dabei brechen die Kristalle ab und bleiben an der Folie haften. Nach dem Abspülen mit Chloroform kann das Wachs in der Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC/MS) oder nach dem Verdunsten des Lösungsmittels zur Rekristallisation verwendet werden.

**Cryomethode** Diese von ENSIKAT et al. in 2000<sup>27</sup> eingeführte Methode ermöglicht es, ohne größere Beschädigung Wachsstrukturen samt des darun-

ter liegenden Films von einer Blattoberfläche oder einer Frucht abzuheben. Beispiele hiervon zeigt die Abbildung 1.2. Dabei wird die gewünschte Stelle auf dem Blatt/der Frucht in Kontakt mit einer Präparationsflüssigkeit (Triethylenglycol TEG, Merck) gebracht und auf etwa  $-100^{\circ}\text{C}$  (173K) mit Hilfe von flüssigem Stickstoff gekühlt. Beim Abheben des gefrorenen Blattes/der Frucht bleibt das Wachs im TEG eingebettet. Nach langsamem Auftauen ist die Übertragung auf eine technische Oberfläche, wie z.B. Polystyrol, möglich. Da TEG wasserlöslich ist, lassen sich Rückstände mit destilliertem Wasser entfernen.

**Klebermethode** Mit Hilfe der Klebermethode ist es möglich, den zweidimensionalen Wachsfilm von der Pflanzenoberfläche zu isolieren und durch eine Analyse Informationen über ihn zu gewinnen. Dabei wird handelsüblicher lösungsmittelfreier Klebstoff (UHU Plus Schnellfest, 5 Minuten, 2-Komponenten Epoxidharzkleber, UHU GmbH & Co.KG, Bühl, Deutschland) auf die Blattoberfläche aufgetragen und mit einem Papierstreifen leicht angedrückt. Nach dem Trocknen wird der am Papier haftende Kleber vom Blatt abgezogen und mit derselben Seite auf Alufolie aufgedrückt. Dadurch bleiben Teile des zweidimensionalen Films an der Folie haften, die Wachsstrukturen hingegen nicht, da sie fest im Klebstoff eingebettet sind. Leider wird bei dieser Methode nur ein geringer Teil des Wachses übertragen, sie ist aber hervorragend geeignet, um Wachse vollständig von einem Blatt zu entfernen, um dann die wachsfreie Blattoberfläche z.B. mittels AFM (Kapitel 2.5.5) zu untersuchen.

## 2.4 Präparationsmethoden

Die Oberflächen des Pflanzenmaterials wurden sowohl im REM als auch im AFM untersucht. Während die Untersuchung von Frischproben im AFM ohne größere Vorbereitung möglich ist, mussten die Proben für das REM zusätzlich zu einer vorsichtigen



Reinigung mit dest. Wasser auch noch speziell präpariert werden, da das in der Pflanze eingelagerte Wasser im Hochvakuum ( $10^{-4}$  -  $10^{-7}$  mbar) verdampft und damit die Oberfläche verzerrt und die aufgesputterte Goldschicht aufplatzt (Details zum Besputterungsvorgang siehe Kapitel 2.5.2). Um dies zu verhindern, werden die Proben mittels verschiedener Methoden präpariert:

**Kritisch-Punkt-Trocknung mit  $CO_2$**  Eine Flüssigkeit hat einen kritischen Punkt, der durch die kritische Temperatur und den kritischen Druck definiert ist. An diesem Punkt koexistieren bei gleicher Dichte Gas und Flüssigkeit nebeneinander, wobei der kritische Punkt das Temperaturmaximum für dieses Phänomen darstellt. Oberhalb dieser Temperatur ist es möglich, die Phasengrenze Gas-Flüssigkeit zu umgehen und durch Druckminderung die Probe zu trocknen. Dabei wird schon im Voraus das enthaltene Wasser der Proben durch Alkohol substituiert, da der kritische Punkt von Wasser bei 219 bar und einer Temperatur von  $374^\circ\text{C}$  liegt. Um das Problem dieser hohen Werte zu umgehen, verwendet man deshalb für die Kritisch-Punkt-Trocknung  $CO_2$  (Kritische Temperatur 304.21 K ( $31.06^\circ\text{C}$ , Lit<sup>1</sup>)). Das langsame Verdampfen des Ethanol wird dann in einer Druckkammer durchgeführt, in der der Alkohol stufenweise durch  $CO_2$  verdrängt wird. Nach dem vollständigen Austausch und dem Belüften der Kammer ist die Probe trocken.

Aufgrund der Tatsache, dass Ethanol die Wachsstrukturen langsam zersetzen kann, wurde diese Methode nicht angewendet, sie sollte nur der Vollständigkeit halber hier aufgeführt werden.

**Glycerinsubstitution** Diese Methode verwendet Glycerin (nach IUPAC Glycerol oder Propan-1,2,3-triol) anstelle von Ethanol zur Substitution, welches die Wachsstrukturen nicht angreift. Dazu werden auf einer Schräge kleine Blattstücke befestigt und kommen über mehrere Stunden mit langsam fließendem Glycerin steigender Konzentration in Kontakt. Dabei kommt es zum Austausch des Wassers durch den wasserlöslichen Trialkohol, welcher für das Hochvakuum geeignet ist.

**Lufttrocknung** Proben mit geringem Wassergehalt lassen sich einfach in einem Exsikkator trocknen. Dabei ist lediglich zu beachten, dass es zum Einfallen der Zellen und zu Schrumpfungsartefakten kommen kann. Während das erste Problem nicht lösbar ist, kann das Schrumpfen und Einrollen der Blätter durch vorheriges Aufkleben auf den Probenteller minimiert werden.

**Gefriertrocknung** Hierbei wird die Probe in einem speziellen Halter, der nur eine kleine Öffnung besitzt, eingebettet und mittels Flüssigstickstoff (Siedepunkt bei 1,013 bar:  $-195,8^{\circ}\text{C}^2$ ) eingefroren. In diesem Zustand wird die Probe nun über Nacht im REM im Hochvakuum aufbewahrt. Das Einfrieren vermindert die Verdampfungsrate des Wasser so weit, dass dabei keine Schäden an den Proben entstehen. Nach dem Besputtern können die Proben im REM begutachtet werden.

## 2.5 Mikroskopie und Probenpräparation

Das folgende Kapitel befasst sich mit der Mikroskopie und damit mit den Möglichkeiten der Visualisierung der Wachstrukturen und der Gewinnung von Daten zur Charakterisierung der Wachse auf den pflanzlichen und technischen Oberflächen.

### 2.5.1 Lichtmikroskopie

Aufgrund der geringen Größe der Wachse eignen sich Methoden wie die Rasterelektronenmikroskopie zur Aufklärung der Wachstruktur. Dennoch bietet auch die klassische Lichtmikroskopie eine Vielzahl von Möglichkeiten, um Untersuchungen an Wachsen zu visualisieren. Ein Einsatzschwerpunkt und auch Vorteil ist die Möglichkeit der Beobachtung von *Prozessen* und *Vorgängen* am Objekt selbst (in situ).

Das verwendete Mikroskop (Leica DM 1000, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) mit mehreren Vergrößerungslinsen (20x/0,40; 40x/0,65; 100x/1,25) wurde genutzt, um die Wirkung von Tensiden auf Wachse zu dokumentieren. Details zu

der Durchführung stehen im Kapitel 2.8.



Abbildung 2.1: Das verwendete Lichtmikroskop Leica DM 1000

### 2.5.2 Rasterelektronenmikroskopie - REM

Das schon im Jahr 1931 von KNOLL und RUSKA entwickelte Rasterelektronenmikroskop basiert auf der Nutzung der Wechselwirkungen von Elektronen und Probe zur Visualisierung der Oberfläche. Dieser Abtastvorgang mittels des Elektronenstrahls ist um ein Vielfaches genauer als der eines Lichtmikroskops. Der Vergrößerungsfaktor von ca. 100000 zu ca. 1000 der Lichtmikroskopie zeigt den Vorteil des Geräts. Das von uns verwendete Rasterelektronenmikroskop (Stereoscan 200, Cambridge Instruments GmbH, Deutschland; mit Visualisierungssoftware Digital Image Scanning System 5, Point Electronics) verwendet eine Wolframkathode als Elektronenquelle. Die aus dieser Glühkathode emittierten Elektronen werden dann durch ein elektrisches Feld mit

einer bestimmten Spannung (in unserem Fall von 0,5 bis 15kV) auf die Probe beschleunigt. Sekundärelektronen dienen dabei als Informationsträger, welcher am Detektor und durch Messelektronik zu einem Bild umgewandelt wird. Abbildung 2.2 zeigt das verwendete REM.

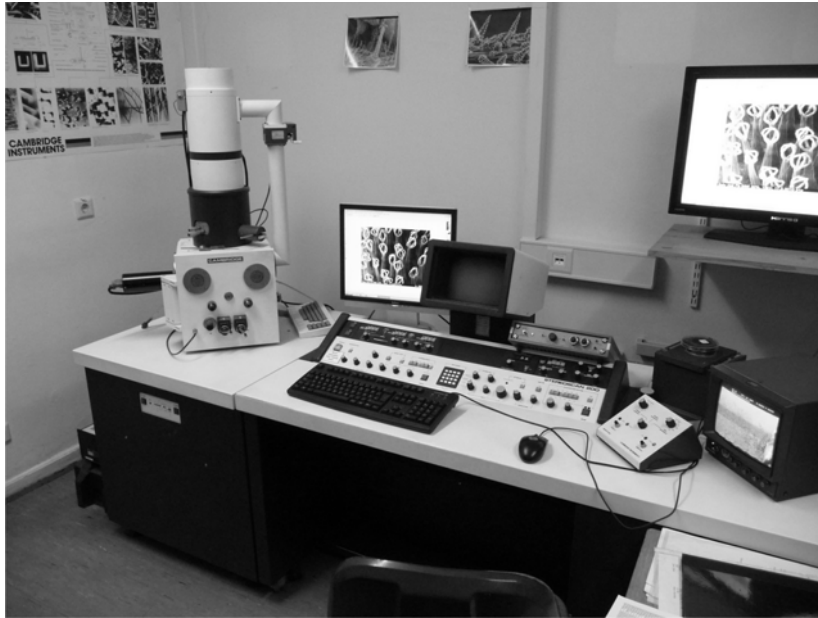


Abbildung 2.2: Das Rasterelektronenmikroskop mit Bedienelement, Monitor und Säule samt Elektronenerzeugungsapparatur

Dieser gesamte Messprozess findet im Hochvakuum ( $10^{-4}$  -  $10^{-7}$  mbar) statt, um Wechselwirkungen mit Luftmolekülen zu vermeiden. Dass die Proben folglich wasserfrei sein müssen, wurde schon im Kapitel 2.4 beschrieben, zusätzlich ist es jedoch nötig, dass eine dünne Schicht eines Metalls (Silber Ag, oder Gold Au) auf die Proben aufgetragen wird. Zum Ersten erhöht sie die Leitfähigkeit der Probe und verhindert somit lokale Aufladungen durch den energiereichen Elektronenstrahl. Zum Zweiten wird die Anzahl der Sekundärelektronen erhöht, was zu einer höheren Auflösung beiträgt. Die Proben wurden in einer Sputteranlage (Balzers SCD040, Balzers, Liechtenstein) mit Gold kurz beschichtet, was zu einer 20-30 nm dünnen Schicht führte.

### 2.5.3 Cryo-Rasterelektronenmikroskopie - Cryo-REM

Die im Kapitel 2.4 beschriebenen Präparationstechniken sind für wasserhaltige biologische Proben notwendig. Statt eines Austauschs oder Entfernung des Wassers geht die Cryo-Rasterelektronenmikroskopie (verwendetes Gerät: Zeiss SUPRA 40VP mit Cryoeinheit) den umgekehrten Weg. Hierbei wird die Probe samt Wasser durch Einfrieren vakuumtauglich fixiert. Allerdings eignet sich langsames Einfrieren nicht dafür, da es durch die zu langsame Abkühlrate zur Bildung von Eiskristallen kommt, welche aufgrund der Anomalie des Wassers ein größeres Volumen besitzen und eine Frostsprengung der Probe einleiten. Deshalb wird zur Kühlung Stickstoff verwendet, dessen Temperatur sich im Vakuum von  $-196^{\circ}\text{C}$  auf etwa  $-210^{\circ}\text{C}$  reduziert und er zum schmelzendem Stickstoff wird. Die gebildeten kleinen Eiskristalle entziehen ihrerseits durch Schmelzen der Probe die überschüssige Wärme. Das Wasser der Probe friert bei diesem Prozess, der eine Abkühlrate von mehr als  $> 1000\text{ K/s}$  aufweist, ohne Formveränderung oder Volumenvergrößerung glasig-amorph ein (KLUG et al. 2002<sup>53</sup>). Die hohe Abkühlrate basiert auf der Verhinderung des Leidenfrost'schen Phänomens<sup>1</sup> der Dampfhautbildung um einen warmen Probenkörper, da sich keine dünne Gasblase bilden kann, die folglich den Energietransfer von Probe zum Stickstoff vermindern würde. Die abgekühlte Probe wird nun in die Probenkammer des Mikroskops überführt und vermessen. Die Visualisierung erfolgt wie im Kapitel 2.5.2 beschrieben.

### 2.5.4 Helium-Ionen-Mikroskopie - HIM

Um noch höhere Vergrößerungen als mit der Rasterelektronenmikroskopie zu erzielen und dabei den Informationsgewinn der Proben weiter zu steigern, bedient man sich der Helium-Ionen-Mikroskopie. Diese Mikroskopiermethode ähnelt der Rasterelektronenmikroskopie in mehreren Punkten. Auch hier wird eine Wolframkathode benutzt, allerdings zur Erzeugung der Helium-Ionen, die beim Vorbeiströmen an der Kathode durch den Tunneleffekt Elektronen abgeben und folglich von der Quelle weg

---

<sup>1</sup>Dieses Phänomen ist vom tanzendem Wassertropfen auf der Herdplatte bekannt.

beschleunigt werden. Beim Auftreffen des gebündelten Helium-Ionen-Strahls auf der Probe werden ebenfalls Sekundärelektronen erzeugt, aber in einer größeren Zahl als bei der Elektronenmikroskopie auftreten. Dies ermöglicht informationsreiche Bilder, welche Aufschluss über die elektronischen, kristallographischen und topographischen Eigenschaften der Probe geben. Der schmale Energiebereich der Sekundärelektronen ermöglicht zudem oberflächensensitivere Messungen. Die höhere Masse der Ionen gegenüber der der Elektronen ist ein weiterer Vorteil der Methode. Die dadurch kürzere De-Broglie-Wellenlänge und geringen Wechselwirkungen ermöglichen den schweren Ionen, eine höhere Auflösung der Probe zu liefern (siehe Gleichung 2.1 und 2.2). Die allgemeine De-Broglie-Gleichung lautet

$$\lambda = \frac{h}{p} \quad (2.1)$$

wobei  $p$  der relativistische Impuls und  $h$  das Plancksche Wirkungsquantum sind.

$$p = \frac{mv}{\sqrt{1 - (v/c)^2}} \quad (2.2)$$

Damit hängt die Wellenlänge von der Geschwindigkeit und der Masse des Teilchens ab und somit wird der Massevorteil der Helium-Ionen nutzbar.

### 2.5.5 Rasterkraftmikroskopie - AFM

Mit Hilfe der Rasterkraftmikroskopie ist es möglich, flache, zweidimensionale Objekte mit schwachen Konturen, die mit der REM nicht erkennbar sind, sichtbar zu machen. Zudem ist es möglich, Proben in situ zu untersuchen. Dazu kann ein Blatt, welches noch an der Pflanze wächst, am Probenhalter befestigt und gescannt werden, so dass alle biologischen Funktionen während der Messung gewahrt werden können. Das AFM verfügt über drei Scanmodi, einen Contactmode, bei dem die Probe mit der AFM-Nadel abgefahren wird, einen Non-Contactmode, bei dem der Cantilever mit einem konstanten Abstand die Probe scannt, und einen Tappingmode, bei dem die Nadel in Schwingung versetzt und somit die Probe nur punktuell vermessen wird. In unseren Messungen wurde der Tappingmode verwendet. Bei diesem dynamischen Anregungsmodus wird die

Anregung extern bei einer festen Frequenz nahe der Resonanzfrequenz des Federbalkens vorgenommen. Dabei verändern die Wechselwirkungskräfte zwischen Spitze und Probe die Resonanzfrequenz, die Schwingungsamplitude und die Phase.



Abbildung 2.3: Abbildung des verwendeten Rasterkraftmikroskops NanoScope IIIa

Bei dem verwendeten Gerät handelt es sich um ein NanoScope IIIa (Digital Instruments, Mannheim). Als Sonden wurden aluminiumbeschichtete Siliziumcantilever (Tap300Al-G von Budget Sensors, Sofia, Bulgarien) mit einer Kraftkonstante von  $40 \text{ N/m}$  und einer Resonanzfrequenz von  $300 \text{ kHz}$  verwendet. Durch eine Reduzierung der Laserstrahlintensität wurden Schäden an den Wachsstrukturen durch thermische Effekte verhindert. Die dadurch erreichten Temperaturen bewegten sich von  $22^\circ\text{C}$  am Anfang der Messung bis zu  $26^\circ\text{C}$  nach einer Laufzeit von mehr als 2 Stunden, nach der kein Drift einzelner gescannter Linien beobachtbar war. Schnellere Prozesse wurden mit einem angepassten Modus untersucht, welcher schneller aber mit geringer Auflösung scannt (Auflösung  $512 \times 512$  Pixel bei 1 - 2 Linien pro Sekunde). Bei langsameren Prozessen wurde die Geschwindigkeit auf etwa 0,5 Linien pro Sekunde angepasst.

### 2.5.6 Kontaktwinkelmessungen - KW

Um festzustellen, wie gut oder schlecht eine Oberfläche benetzbar ist, bedient man sich eines Kontaktwinkelmessgeräts (Abbildung 2.4, OCA 30, Dataphysics GmbH, Filderstadt). Neben Daten über die statischen Kontaktwinkel lassen sich auch Informationen über die Hysterese, welche durch Kippung der Probe und gleichzeitige Erfassung des Vor- und Rückschreitewinkels bei der ersten Bewegung des Tropfens gemessen wurde, ermitteln. Dazu wird ein Tropfen definierter Größe (in den hier durchgeführten Messungen  $5\text{ }\mu\text{m}$ ) auf die zu untersuchende Testfläche appliziert und manuell oder mittels des „Young-Laplace-Fittings“ ausgewertet. Um vollständiges Applizieren der Tropfen zu gewährleisten, wurde zuvor die Dosierkanüle (SNS 021/011) mit Antispread (E2/ 50 FE 60, Dr. Tillwich GmbH, Horb-Ahldorf) hydrophobiert. Eine eingebaute Videokamera ermöglicht auch die Aufnahme von Tropfen während ihrer Bewegung bei Abroll- und Hysteresemessungen. Von jeder Probe wurden 10 Einzelmessungen an verschiedenen Stellen durchgeführt und das arithmetische Mittel und die Standardabweichung errechnet.

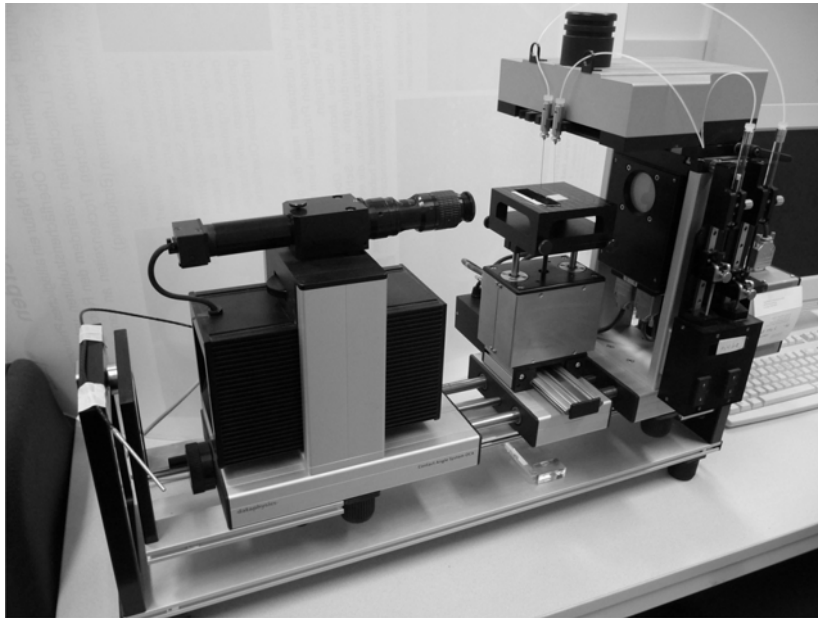


Abbildung 2.4: Das Kontaktwinkelmessgerät mit Neigungsfunktion zur Messung des Abrollwinkels, einer Dosierkanüle zur Applikation und Kamera mit Videofunktion



## 2.6 Analyse und Probenpräparation

Dieses Kapitel beschreibt Techniken und die verwendeten Messapparaturen zur Analyse chemischer oder kristallographischer Art.

### 2.6.1 Gaschromatographie und Massenspektrometrie - GC/MS

Die Entschlüsselung der chemischen Zusammensetzung der Wachse ist ein wichtiger Schritt zum Verständnis ihrer Eigenschaften und der Selbstorganisation. Als gute Analysemethode erweist sich die Kombination aus Gaschromatographie und Massenspektrometrie. Die Massenspektrometrie liefert Daten über die Chemie der Wachse, die Gaschromatographie über die Menge der einzelnen Moleküle und somit über deren quantitativen Anteil am Wachsgemisch. Alle GC-MS-Untersuchungen wurden bei Prof. Dr. Lukas Schreiber in der Abteilung für Ökophysiologie (IZMB), Bonn, durchgeführt.

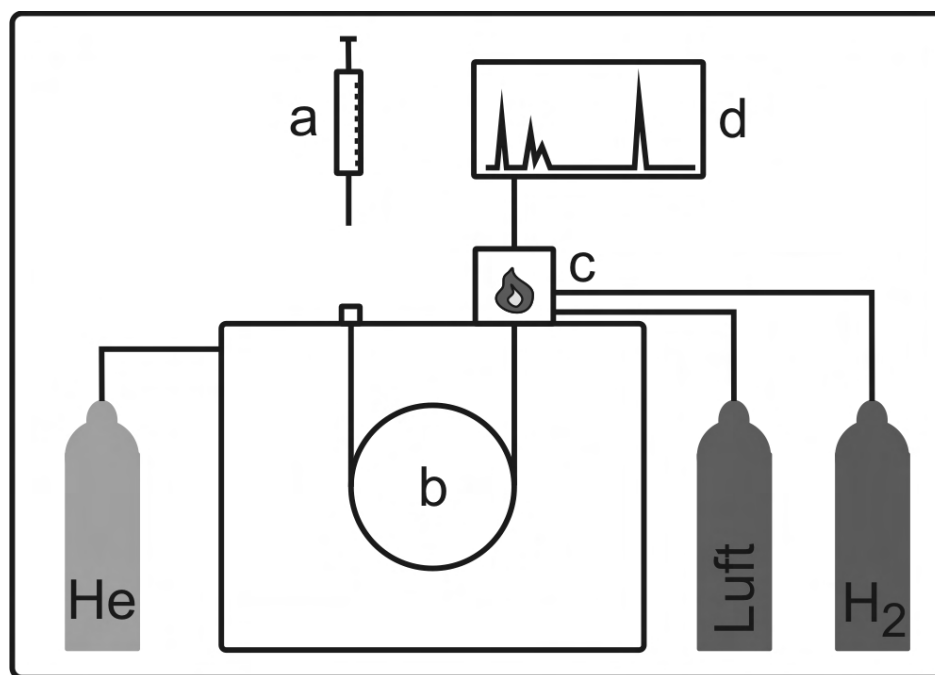


Abbildung 2.5: Schema des verwendeten GC/MS-Gerätes; a) Injektor, b) GC-Ofen mit Trennsäule, c) Flammenionisationsdetektor, d) Messelektronik, Trägergas: Helium

Beide Geräte trennen die Substanzen nach dem gleichen Prinzip, detektieren aber unterschiedlich. Als Trennsäule wird meistens eine über 50 Meter lange Glaskapillare verwendet, die von einem inerten Trägergas (Helium oder Stickstoff) durchströmt ist. Das für diese Versuchsreihe verwendete MS-Gerät benutzt einen Quadrupol als Detektor (HP 5971, Avondale, USA) zur Wachsidentifikation und das GC-Gerät einen Flammenionisationsdetektor (GC-FID, HP 5890 series II, Avondale, USA) zur Massenbestimmung. Beide besitzen eine Säuleneinspritzvorrichtung mit diesen technischen Daten: 30 Meter DB-1 i.d. 0.32 mm, film 0.2  $\mu\text{m}$ ; J&W Scientific, Folsom, California, USA). Abbildung 2.5 zeigt das Schema der verwendeten, gekoppelten Geräte.

Um ungewünschte Reaktionen während der Messung zu verhindern und zur Sicherstellung der Richtigkeit der Detektion, wurden Alkohole und Carbonsäuren der Wachsproben chemisch mit Schutzgruppen maskiert. Eine Reaktion mit N,O-bis-trimethylsilyl-trifluoroacetamid (BSTFA, Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) bei 70°C für 45 min (mit Pyridin als Zusatz) überführte die Alkohole und Carbonsäuren in ihre entsprechenden Trimethylsilyl-Derivate (TMS) ( $S_N2$  Reaktion). Ein  $\mu\text{l}$  dieser Lösung wurde in die Apparaturen zur Messung eingespritzt, eine exakte Menge eines internen Standards (100  $\mu\text{l}$  Tetracosan;  $C_{24}$ , Fluka Chemie, Buchs, Schweiz) fungierte als Berechnungsbasis für die Menge der einzelnen Komponenten.

### 2.6.2 Röntgenpulverdiffraktometrie - XRD

Bei den ersten Beobachtungen und Untersuchungen der Kutikula ging man davon aus, dass die epikutikularen Wachse amorphen Charakter besitzen. Als diese Behauptung nicht mehr haltbar war, wurde der Begriff „Kristalloid“ eingeführt. Moderne Untersuchungen, auch mittels der Pulverdiffraktometrie, zeigen, dass sowohl die dreidimensionalen Strukturen als auch die sich darunter befindlichen zweidimensionalen Filme Kristalle *sind* (ENSIKAT et al. 2006<sup>26</sup>). Die Pulverdiffraktometrie bedient sich monochromatischer Röntgenstrahlung, deren Wellenlänge den Abständen der Atome im Kristall entspricht. Dieser Abstand bestimmt, ob sich konstruktive oder destruktive

Interferenz bildet. Aufgrund des periodischen Aufbaus eines Kristalls tritt die konstruktive Interferenz bei gegebener Wellenlänge nur bei bestimmten Einstrahlwinkeln auf, welche mit Hilfe der Bragg'schen Gleichung ausgewertet werden können:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (2.3)$$

wobei  $n$  eine natürliche Zahl,  $\lambda$  die Wellenlänge der monochromatischen Strahlung,  $d$  der Netzebenenabstand und  $\sin \theta$  der Winkel zur Netzebene sind.

Die Messungen wurden mit einem Pulverdiffraktometer (Bragg-Brentano-Geometrie, PW 1049/10, Philips, Eindhoven, Niederlande) durchgeführt, welches eine Cobalt  $K_\alpha$  Strahlung mit  $1,79 \text{ \AA}$  aussendet. Die Wachsmenge auf dem Siliziumplättchen, welches als Substrat fungierte, variierte von 1 bis  $2 \text{ mg}$ . Die Diagramme selbst wurden in Schritten von  $0,02^\circ$  aufgenommen, wobei jeder Schritt zwischen 1-10 s dauerte. Die Messungen wurden, mit Unterstützung von Hans-Jürgen Ensikat, in der Abteilung „Anorganische Materialforschung“ von Prof. Dr. Werner Mader der Universität Bonn durchgeführt.

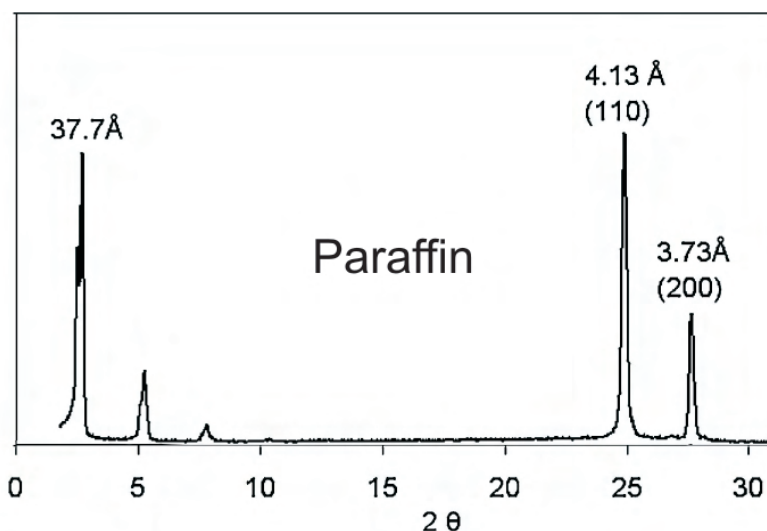


Abbildung 2.6: Diagramm einer Messung von Paraffin mit typischen „long und short spacings“ Peaks (ENSIKAT et al. 2006<sup>26</sup>)

Abbildung 2.6 zeigt die Gittercharakteristika am Beispiel von Paraffin. Die „long

spacings“ ( $00l$ ) bei  $37,7\text{\AA}$  liefern Erkenntnisse über Ordnung und Dicke der einzelnen molekularen Schichten, die „short spacings“ ( $hk0$ ) über laterale Abstände zwischen den Molekülketten. Substanzen wie Paraffin weisen eine große Anzahl an Molekülen verschiedener Kettenlänge auf, was zur Folge hat, dass die ( $00l$ ) Peaks, im Gegensatz zu Reinsubstanzen mit einheitlicher Kettenlänge, rasch an Intensität verlieren. Die hier gezeigten ( $hk0$ ) Peaks bei  $4,13$  und  $3,73\text{\AA}$  sind typisch für eine orthorhombische Struktur, welche auch bei Nonacosan ( $C_{29}H_{60}$ ) und Octacosan-1-ol vorkommt. Triklone Strukturen haben short Peaks bei  $4,58$  und  $3,80\text{\AA}$  (z.B. Tetracosan  $C_{24}$ , Hentriacontan-16-on als Keton besitzt nur bei  $4,13\text{\AA}$  einen Peak, was für eine hexagonale Ordnung spricht (MALKIN et al. 1952<sup>71</sup>, MAZLIAK et al. 1968<sup>73</sup>).

### Präparation für XRD-Messungen

Die Präparation der Wachsproben für die Röntgenbeugungsmessungen erfolgte bei allen Proben auf gleiche Art und Weise. Eine geringe Menge des zu untersuchenden Wachses (ca.  $2\text{ mg}$ ) wurde auf einen  $1\text{ cm}^2$  kleinen Siliziumwafer aufgebracht. Eine Befeuchtung mit Ethanol diente zur Fixierung und Verdichtung der Masse. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels wurden die Messungen durchgeführt.

### 2.6.3 Dynamische Differenzkalorimetrie - DSC

Die Dynamische Differenzkalorimetrie (engl.: Differential Scanning Calorimetry DSC) ist der ebenfalls gebräuchlichen Differenzthermoanalyse (DTA) ähnlich, allerdings misst sie nicht Temperaturunterschiede der Probe zu ihrer Referenz während des Heizens oder Kühlens, sondern die aufgenommene oder abgegebene Wärmemenge bei einer isothermen Aufheizung oder Abkühlung. Diese Methode eignet sich hervorragend zur Bestimmung von Schmelz- und Glasübergangstemperaturen, Phasenübergängen und der Wärmekapazität von Substanzen. Für die Messungen wurden jeweils  $0,5\text{ mg}$  des zu untersuchenden Wachses in einen Aluminiumtiegel gegeben und verschlossen, der

Referenztiegel blieb hingegen leer. Das Heizprogramm im Temperaturbereich von - 20 bis + 20°C wurde zur Kalibrierung des Gerätes und zum Temperatúrausgleich der Proben genutzt. Das Heizen selbst wurde mit 10 K/s durchgeführt. Nach Erreichen der maximalen Temperatur von 120°C wurde die Probe wieder kontrolliert mittels eines Kühlprogramms auf -20°C gebracht (ebenfalls 10 K/s). Alle Messungen (bis auf Tetracosan) wurden zweimal im Institut für Anorganische Chemie, Bonn (Leitung: Prof. Dr. Johannes Beck) durchgeführt.

## 2.7 Rekristallisationsexperimente

Die im ersten Teil der Arbeit extrahierten Wachse und die mittels der erwähnten Analysemethoden gewonnenen Erkenntnisse werden im zweiten Teil zur Ermittlung von Parametern für die Optimierung und Kontrolle der Wachsrekristallisation genutzt. Die Übertragung der Wachsstruktur auf technische Oberflächen kann durch verschiedene Techniken erfolgen. Eine Übersicht über die Substrate und Rekristallisationen soll dieses Kapitel geben.

### 2.7.1 Substrate

Das verwendete Substrat hat zwei große Einflüsse auf den Rekristallisationsprozess der Wachse. Zum einen ist die Kristallstruktur wichtig, zum anderen spielt die Polarität eine Rolle. Sowohl die Polarität des Substrats, als auch die der Moleküle können deren Ausrichtung und damit die Vorzugsrichtung der Rekristallisation bestimmen. Octacosanolschuppen, wie sie bei *Baptisia australis* L. vorkommen, haben eine polare Hydroxyendgruppe, welche bewirkt, dass diese Wachsstrukturen auf polaren Substraten (Glas, Silizium) horizontal und auf unpolaren Substraten (HOPG) senkrecht zur Oberfläche wachsen. Ein Beispiel für die Bildung weiterer Schichten zeigt Abbildung 2.7, wo senkrecht stehende Alkane durch ihre Kettenlänge die Dicke der einzelnen Schichten bestimmen (KOCH et al. 2006<sup>56,58</sup>).

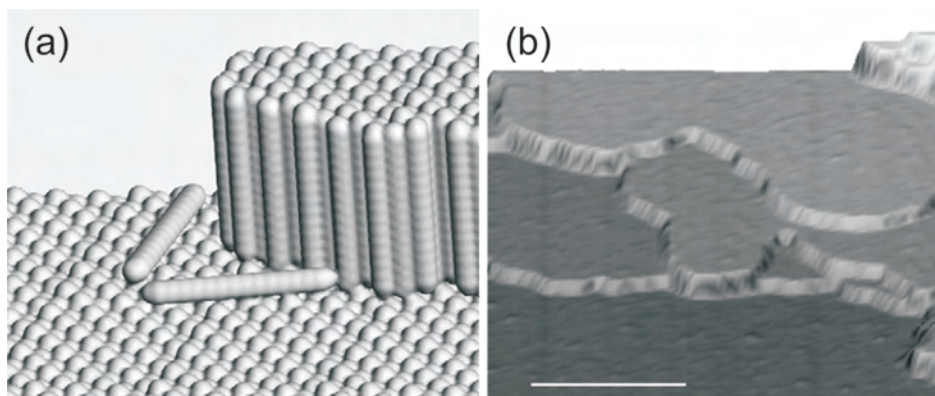


Abbildung 2.7: (a) Schema einer Wachsschicht, die aus senkrecht zur Ebene und parallel zueinander geordneten langkettigen Alkanen besteht; (b) AFM-Bild solcher Schichten (Skala =  $5\text{ }\mu\text{m}$ , Höhe jeder Schicht  $\approx 40\text{ }\text{\AA}$  (ENSIKAT et al. 2006<sup>26</sup>))

Neben der Polarität zeigt sich in bestimmten Fällen auch ein kristallographischer Einfluss. Die hexagonale Kristallstruktur von Graphit (HOPG, dihexagonal-dipyramidal, Punktgruppe:  $D_{6h}$ ) beeinflusst die Wachstumsrichtung und damit die Orientierung der einzelnen Moleküle während der Rekristallisation (KOCH et al. 2006<sup>56</sup>). Dieser Effekt lässt sich z.B. beobachten, wenn geringe Mengen (ca.  $5 - 10\text{ g/L}$ ) an Gesamtwachs, d.h. Wachs, welches als Ergebnis einer Gesamtextraktion neben den strukturgebenden auch die filmbildenden Komponenten beinhaltet, als eine Lösung auf das Substrat aufgebracht werden. Die filmbildenden Komponenten formen eine Unterlage auf, in der sich die Wachsstrukturen ausbilden, aber gleichzeitig schwächt sie mit ihrer zunehmenden Dicke den Substrateffekt, bis er letztendlich nicht mehr strukturbildend wirkt und somit die Ausrichtung der Kristalle nicht mehr beeinflussen kann.

### 2.7.2 Rekristallisation aus Lösung

Diese Form der Rekristallisation wurde schon unter anderem von JEFFREE et al. 1975<sup>46</sup> und von JEFFREE & JETTER 1994<sup>47</sup> und 1995<sup>48</sup> beschrieben. Bei einer allgemeinen und häufig angewendeten Möglichkeit der Wachsrekristallisation aus Lösung wird ein Tropfen einer Chloroformlösung und den darin zuvor gelösten Wachsen auf

ein Substrat appliziert. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels, welches je nach Verdampfungsenthalpie und Temperatur schneller (wenige Minuten) oder langsamer (einige Stunden) verdunstet, sind die ersten Wachsstrukturen unter dem AFM oder REM sichtbar.<sup>2</sup>

Diese Methode bietet einige Vorteile, wie z.B. die hohe Abscheidungsgeschwindigkeit und die einfache Durchführbarkeit. Leider ist sie aber auch mit einem Nachteil, dem sogenannten „Coffee-Drop“-Effect (siehe Abbildung 2.8), verbunden. Diese Strukturen werden entweder durch einen Temperaturgradienten (Marangoni-Bénard-Konvektion, MITOV et al. 1998<sup>76</sup>, XU et al. 2003<sup>118</sup>) oder, wie in unserem Fall, durch Oberflächenunregelmäßigkeiten ausgelöste erhöhte Adhäsion des Tropfens hervorgerufen. Durch die erhöhte Haftung am Tropfenrand verdunstet dort mehr Lösungsmittel und bewirkt einen Transport von Wachsmolekülen nach außen. Nach gewisser Zeit ist durch den Lösungsmittelverlust die Oberflächenspannung des Tropfens größer als die Haftkräfte und es kommt zu einer sprunghaften Reduzierung der Kontaktfläche und der Abscheidungsprozess beginnt erneut. Der englische Ausdruck „stick-slip-motion“ beschreibt diesen Vorgang (siehe auch SHMUYLOVICH et al. 2002<sup>105</sup>, NOMOMURA et al. 2003<sup>84</sup>). Dieser „Coffee-Drop“-Effekt verhindert die Herstellung homogener Oberflächen und macht somit die auf Lösungsmitteln basierende Rekristallisationsmethode für unsere Zwecke eher unbrauchbar.

### 2.7.3 Rekristallisation aus der Schmelze

Diese Methode bedarf keines Lösungsmittels. Das extrahierte und getrocknete Wachs wird auf das entsprechende Substrat aufgetragen und auf einer Heizplatte zur Schmelze gebracht. Sobald es flüssig ist, hat man die Möglichkeit, die Wachstropfen über die gesamte Oberfläche zu verteilen. Um die Rekristallisation der Wachse zu starten, ist es notwendig, die Proben abzukühlen. Zum einen kann dies rasch durch das Umsetzen der Probe an einen kühlen Ort passieren (bei Raumtemperatur  $\approx 15\text{ K/s}$ ), wobei es zu

---

<sup>2</sup>Das Lösungsmittel erhöht die Mobilität der Moleküle, so dass sie zueinander finden können und der Rekristallisationsprozess beginnen kann.

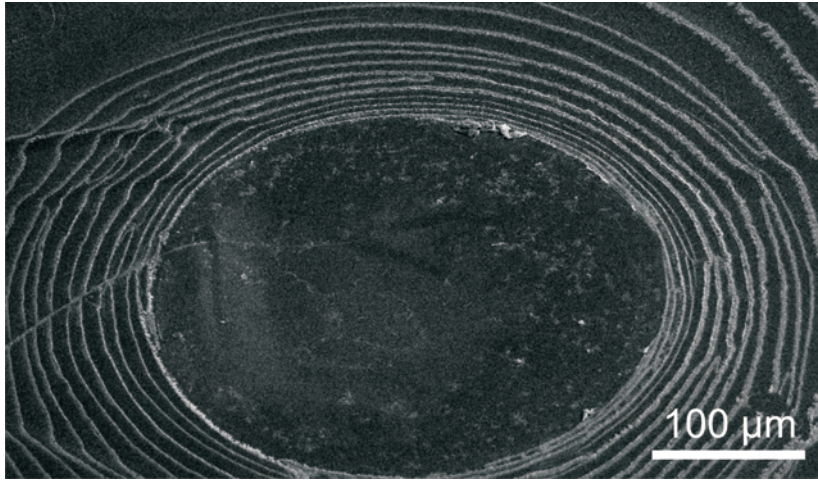


Abbildung 2.8: Coffee-Drop-Effect bei einer Rekristallisation aus Lösung (Abbildung ©KERSTIN KOCH)

einem schnellen Erstarren kommt. Die vollständige Abkühlung muss nicht abgewartet werden, da die Rekristallisation deutlich unterhalb der Schmelztemperatur  $S_m$  nicht mehr stattfindet. Die zweite und auch im Hinblick auf das Ergebnis bessere Methode ist das langsame Abkühlen auf der Heizplatte ( $< 1 \text{ K/min}$ ), da hier das Wachs mehr Zeit hat, um zu rekristallisieren. Aber auch hier ist eine vollständig homogene Kristallisation des Wachses nicht gewährleistet.

#### 2.7.4 Rekristallisation mittels thermischer Wachsaufdampfung

Die Rekristallisation mittels thermischer Wachsaufdampfung liefert die besten Ergebnisse in Bezug auf Homogenität der Wachsbedeckung der Proben. Zudem wird hierbei auf Lösungsmittel während der Bedampfung verzichtet. Der Selbstorganisationsprozess kann durch Verwendung von Lösungsmitteldampf und/oder erhöhter Temperatur gestartet bzw. unterstützt werden. Für dieses Vorhaben wird die Probe kopfüber in der Vakuumkammer befestigt (siehe Abbildung 2.9; (Edwards E306, umgerüsteter Kohlebedampfer). Sobald der gewünschte Unterdruck durch eine Öldiffusionspumpe mit vorgeschalteter Drehschieberpumpe erreicht ist (etwa  $10^{-5} \text{ mbar}$ ), wird das Wachs auf einem Kupferblech ( $1 \text{ cm}^2$ ) mittels eines elektrischen Widerstands über den Verdampf-



fungspunkt erwärmt. Teile des Dampfes setzen sich auf der Probe nieder, wobei sie abkühlen und erstarren. Die Proben werden dann bei einer konstanten Temperatur mehrere Tage in einem Trockenschrank aufbewahrt. Zur Beschleunigung der Rekrystallisation ist die Wahl einer höheren Temperatur und/oder die Verwendung von Lösungsmitteldämpfen unerlässlich. Dazu werden die Proben auf einer erhöhten Ebene in eine Petrischale gelegt, um Kontakt mit dem flüssigen Lösungsmittel zu vermeiden. Die aufsteigenden Dämpfe kommen so in Kontakt mit der Probe, ohne auf ihr zu kondensieren, da die Probentemperatur anfangs unterhalb der Umgebungstemperatur liegt. Um eine Übersättigung der Luft in der Petrischale zu vermeiden werden die Petrischalen nicht abgedichtet (siehe Versuchsaufbau Abbildung 4.6).

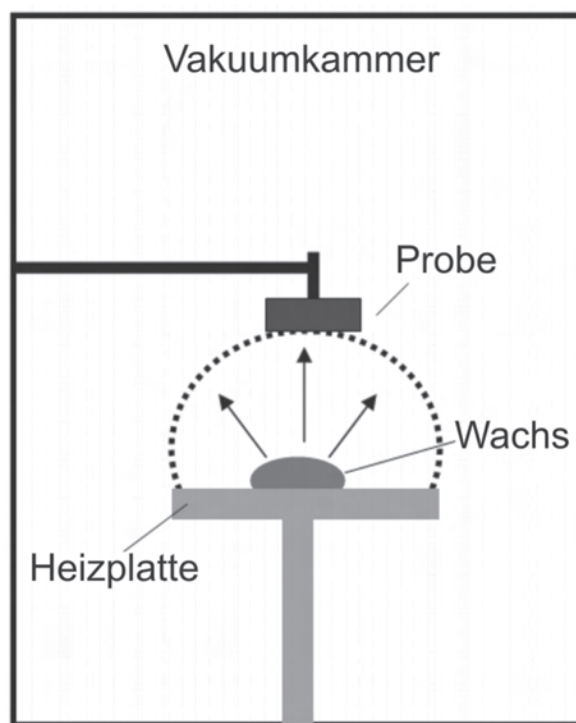


Abbildung 2.9: Der Bedampfer mit einer Heizplatte, auf der die Wachsprobe verdampft und sich durch sphärische Verteilung in der Vakuumkammer auch auf der Probe absetzt (NIEMIETZ et al. 2009<sup>81</sup>, ©KERSTIN KOCH)

## 2.8 Experimente zur Stabilität der Wachse

Die im zweiten Teil der Arbeit hergestellten Wachsproben, aber auch die entsprechenden Wachsstrukturen auf Blättern, dienen im dritten und abschließenden Teil als Basis für Experimente zur Stabilität der Wachsstrukturen gegenüber Chemikalien in Form von Tensiden. Der Fokus wird auf zwei in der konventionellen Landwirtschaft verwendete Substanzen gelegt. Zum einen sind es die Tenside, die in Pflanzenschutzmitteln zum Einsatz kommen, zum anderen sind es Salze, die in Form von Mineralien und Nährsalzen mit der Pflanze in Kontakt kommen.

### 2.8.1 Einfluss von Tensiden

Seit längerem bedient man sich in der Landwirtschaft für die Applikation von verschiedenen Wirkstoffen, seien es Fungizide, Pestizide oder Herbizide, der Tenside. Durch ihre Eigenschaft der Mizellenbildung in Lösung ermöglichen sie die Einlagerung und den Transport der gewünschten Wirkstoffe. Die in dieser Arbeit untersuchte Fragestellung bezieht sich nicht auf Fragen zu den Wirkstoffen selbst oder deren Wirksamkeit, sondern nur auf die Auswirkungen der Tenside auf die Stabilität der Wachse.

Schon seit längerem befassen sich Wissenschaftler mit dem destruktiven Effekt der Tensidlösungen auf epikutikulare Wachse, sei es die Änderung der Blattmikromorphologie (NOGA et al. 1987<sup>82</sup> und 1991<sup>83</sup>, TAMURA et al. 2001<sup>107</sup>), der Möglichkeit der Kontamination (NEINHUIS et al. 1992<sup>80</sup>) oder der Permeabilität der Kutikula gegenüber Wasser (RIEDERER et al. 1990<sup>91</sup>) oder Pestiziden (BUKOVAC et al. 1993<sup>17</sup>). In dieser Arbeit werden nicht diese makroskopischen, sondern mikro- bis nanoskopische Phänomene untersucht, d.h. es werden die Änderungen an einzelnen Wachsstrukturen dokumentiert. Um allerdings diese Änderung beobachten zu können, werden die üblichen Applikationsmethoden modifiziert. Nach dem Ansetzen der Tensidlösung (AGNIQUE SBO 10, ein ethoxyliertes Triglycerid mit *durchschnittlich* 10 Ethoxygruppen, Cognis GmbH, Monheim) mit Konzentrationen von 1 g/l und 0,1 g/l wurden sie sowohl auf Blätter (*Tropaeolum majus* L.) als auch auf technische Oberflächen appliziert. Die

Tensidtropfen wurden unterschiedlich lang auf der Oberfläche belassen, und nach deren Entfernung wurde ein Teil der Proben mittels der Elektronenmikroskopie untersucht, um Änderungen zu dokumentieren. Alle Versuche wurden bei Raumtemperatur durchgeführt und Trocknungsartefakte an Blättern wurden verhindert, indem man sie zuvor auf Probenhalter mit doppelseitigem Klebeband (Tesa, Tesa AG, Hamburg) fixierte. Als Kontrollgruppe dienten unbehandelte Oberflächen, die unter gleichen Bedingungen gelagert wurden. Neben diesen Experimenten wurde auch die Lichtmikroskopie zur Visualisierung genutzt. Hierzu wurde das Röhrchenwachs von *Thalictrum flavum ssp. glaucum* L. mittels der Cryo-Methode (siehe Kapitel 2.3) auf eine Polystyroloberfläche übertragen. Nach der Benetzung dieser Oberfläche mit Wasser (Superhydrophobie der Wachse blieb nach der Übertragung weiterhin erhalten) und gleichzeitigem Auflegen eines Deckgläschens wurde die Luftblasenbildung minimiert, jedoch nicht komplett verhindert. Nach dem Fokussieren des Mikroskops wurde von einer Seite der Probe Wasser mittels eines Papiertuchs entfernt, während von der gegenüberliegenden Seite die Tensidlösung unter das Deckglas hineingezogen wurde. Nach dem Komplettaus-tausch wurden einzelne Aufnahmen mittels einer CCD-Kamera in zeitlichen Abständen gemacht.



# ERGEBNISSE UND DISKUSSION



## Kapitel 3

# Chemische Zusammensetzung, Kristallstruktur und physikalische Eigenschaften der untersuchten Wachstypen

Neben der Charakterisierung der chemischen Zusammensetzung, welche zum Teil für die Untersuchung der physikalischen Eigenschaften notwendig ist, wurde auch die Kristallstruktur der Wachse per Röntgenbeugung untersucht.

Die GC-MS bietet sowohl die Möglichkeit der qualitativen, als auch der quantitativen Bestimmung der einzelnen Komponenten im Wachsgemisch. Bei den hier durchgeführten Experimenten wurde der Schwerpunkt auf die Identifizierung der Einzelkomponenten und deren Mengenverhältnis zueinander gelegt. Absolutmengen, bezogen auf die Blattfläche, wurden nicht ermittelt. Der Übersicht halber werden bei der Auswertung der GC-MS-Daten die Kettenlängen der einzelnen Moleküle mit  $C_{XX}$  abgekürzt, z.B.:  $C_{26}$  steht für eine Kettenlänge von 26 Kohlenstoffatomen, bei einem Alkan ist es dann Hexacosan, bei einem primären Alkohol Hexacosanol. Die Cryo-, Stempel- und Klebermethode werden des öfteren in Aufzählungen der Einfachheit halber mit Cr (Cryo),

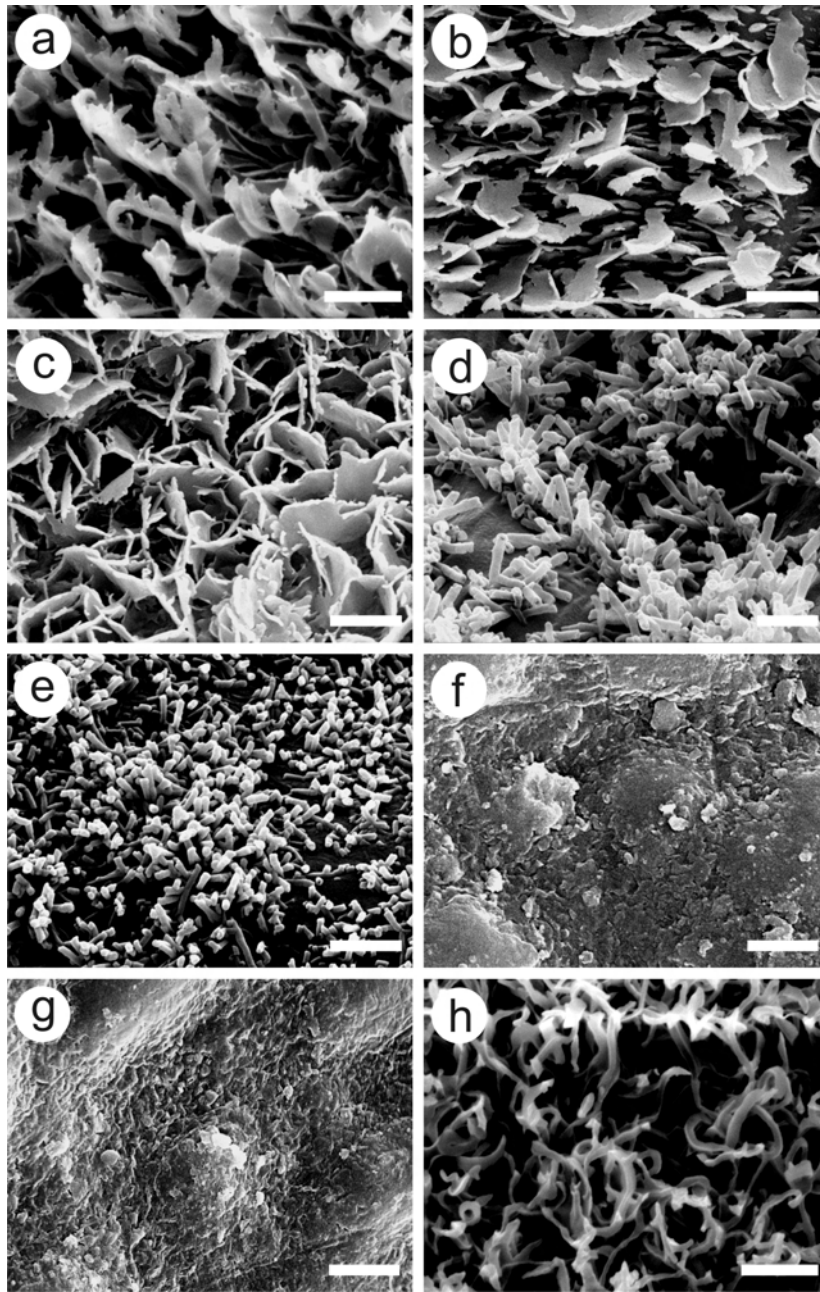


Abbildung 3.1: REM-Bilder der untersuchten Wachsstrukturen (alle Bilder zeigen die Blattoberseite) a) *Allium porrum* L.; b) *Iris germanica* L.; c) *Baptisia australis* L.; d) *Tropaeolum majus* L.; e) *Thalictrum flavum* ssp. *glaucum* L.; f) *Citrus limon* L.; g) *Citrus sinensis* L.; h) *Hebe pinguifolia* L.. Skalen bei a) bis e) 2  $\mu\text{m}$ , bei f) und g) 5  $\mu\text{m}$ .



St (Stempel) und Kl (Kleber) abgekürzt. Die prozentualen Angaben beim Vergleich der einzelnen Kohlenstoffkettenlängen einer bestimmten Stoffklasse beziehen sich auf die Verteilung der einzelnen Kettenlängen innerhalb der angewandten Methode. Die prozentualen Angaben der jeweiligen Stoffklassen liefern die methodenübergreifenden Vergleiche. Alle Messungen wurden zweimal durchgeführt, auf eine Angabe der Standardabweichung wird deshalb verzichtet. Die gezeigten MS-Diagramme zeigen teilweise nicht alle gemessenen Peaks, was mit ihrer geringen Größe und der Verkleinerung des Diagramms zu erklären ist.

Durch den Einsatz verschiedener Wachsextraktionsmethoden (Kapitel 2.3) wurde zudem versucht, die Frage nach den strukturbildenden Komponenten zu beantworten, d.h. die Frage, welche Komponenten für bestimmte dreidimensionale Wachsstrukturen verantwortlich sind.

Neben der chemischen Zusammensetzung wurde bei einigen ausgesuchten Wachsen die Kristallstruktur mittels Röntgenbeugung (Kapitel 2.6.2) und das thermische Verhalten mittels DSC (Methode: Kapitel 2.6.3 Ergebnisse: Kapitel 3.5) untersucht. Hierdurch sollen über das thermische Verhalten Einblicke in die Kristallordnung gewonnen und die Schmelztemperaturen bestimmt werden.

Einen Überblick über die verschiedenen untersuchten Wachsstrukturen gibt Abbildung 3.1. Sie zeigt alle epikutikularen Wachse, die analysiert worden sind und deren Chemie in den einzelnen Kapiteln beschrieben ist.

## 3.1 Wachsschuppen

In diesem Kapitel werden die Wachsschuppen von *Allium porrum* L., *Iris germanica* L. und *Baptisia australis* L. auf ihre chemische Komposition hin untersucht. Bei Porreewachs wurde zudem eine kristallographische Untersuchung durchgeführt, welche die Eigenschaften dieser Wachsstruktur aufzeigt.

### 3.1.1 Kristallstruktur der Wachsschuppen

Die Untersuchung der Kristallstruktur der Wachsschuppen wurde exemplarisch an Porreewachs (*Allium porrum* L.) durchgeführt. Die Ergebnisse sind im Diagramm 3.2 aufgezeigt.

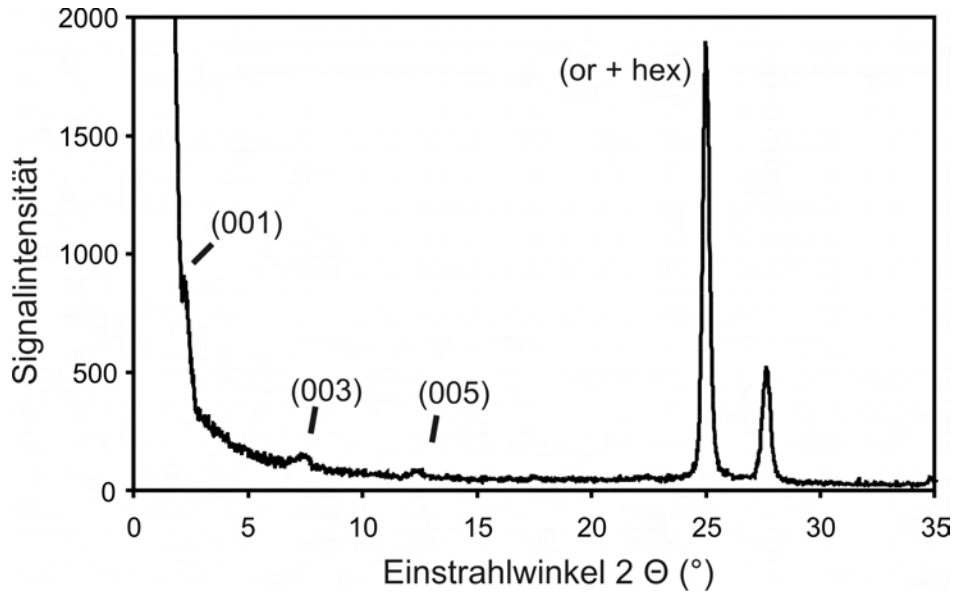


Abbildung 3.2: Ergebnisse der Röntgenbeugungsmessungen von Porreewachs; or = orthorhombisches, hex = hexagonales Gitter

Das Diagramm weist zwei charakteristische Bereiche mit unterschiedlich starken Peaks auf. Zum einen den Bereich der „long spacings“ bis etwa  $20^\circ$ , der Informationen über die Abstände der Molekülketten in Längsrichtung gibt, zum anderen die „short spacings“ um  $20$  bis  $30^\circ$ , die die lateralen Gitterabstände zwischen den Molekülketten aufzeigen. Mit Hilfe der Bragg'schen Gleichung  $n\lambda = 2d \sin \theta$  und der bekannten Werte für die Wellenlänge der monochromatischen Strahlung und des Winkels  $\theta$  (Winkel zur Netzebene), der aus dem Diagramm ablesbar ist, lässt sich  $d$ , der Abstand der einzelnen Netzebenen, errechnen. Mit Hilfe der Formel von DORSET et al. (1995)<sup>24</sup> ist es möglich, die Kohlenstoffanzahl der Moleküle, vor allem bei Alkanen, zu errechnen. Dazu wird der Wert des (001) Peaks als Ergebnis der Formel  $1,273n + 1,875 \text{ \AA}$  gesetzt; bei Porree erhält man durch die Vielzahl an unterschiedlichen Kettenlängen

einen Durchschnittswert von 27,72 Kohlenstoffatome pro Kette, was etwa Heptacosan, bzw Octacosanol entspricht (Octacosanol hat noch eine terminale Hydroxygruppe, die das Molekül verlängert). Tabelle 3.1 zeigt die Ergebnisse der Röntgenbeugungsversuche. Die verwendete Nomenklatur  $hkl$  nach Miller (Millersche Indizes) dient der eindeutigen Bezeichnung von Ebenen und Vektoren in einem Kristallsystem.

Tabelle 3.1: Aufstellung der gemessenen Peaks der Röntgenbeugungsversuche von Porreewachs

Winkel $2\theta$ [Grad]	Kristallgitter / ( $hkl$ )	Netzabstand $d$ [Å]
2,76	(001)	37,162
7,48	(003)	13,720
12,20	(005)	8,283
24,98	orthorhombisch (110) und hexagonal (100)	4,138
27,64	(200)	3,858

Die „long-spacing“-Peaks sind relativ schwach, aber klar messbar. Der hoch ansteigende Pegel unterhalb von  $2^\circ$  ist ein Störsignal, verursacht durch die Breite des Röntgenstrahls abhängig von der verwendeten Apertur in Kombination mit dem sehr flachen Einstrahlwinkel (was einer geringen Probenneigung am Anfang der Messung entspricht). Der (001) Peak kann deshalb nicht exakt gemessen werden, weil er auf der Flanke des Störsignals liegt; aber er kann durch Interpolation aus den Peaks höherer Ordnung bestimmt werden, weil diese einen exakt periodischen Abstand aufweisen. Mit der Interpolation kann auch eine eventuelle Nullpunkt-Verschiebung aufgrund ungenauer Probenhöhe korrigiert werden. Die fehlenden (002) und (004) Peaks sind auf das zentral gelegene Sauerstoffatom der Carbonylgruppe der Hauptkomponente Hentriacontan-16-on zurückzuführen. Ein eventuelles Vorhandensein der hexagonalen Phase ist schwierig zu erkennen, weil der charakteristische Peak (100 hexagonal) genau deckungsgleich mit dem (110 orthorhombisch) bei  $4,138 \text{ Å}$  liegt. Eine ungewöhnliche Höhe des Peaks im Vergleich zum  $3,858 \text{ Å}$  Peak lässt darauf schließen, da auch reines Palmiton genau diesen Effekt zeigt (ENSIKAT et al. 2006<sup>26</sup>).

### 3.1.2 *Allium porrum* L. - Lauch

Wie im Material und Methoden-Kapitel beschrieben, wurde das Wachs von *Allium porrum* L. mittels Chloroform extrahiert, gefiltert und für die GC-MS entsprechend präpariert (Kapitel 2.6.1). Die Ergebnisse der Massenspektrometrie sind in Abbildung 3.3 und die Gaschromatographieergebnisse in Abbildung 3.4 als Diagramme gezeigt.

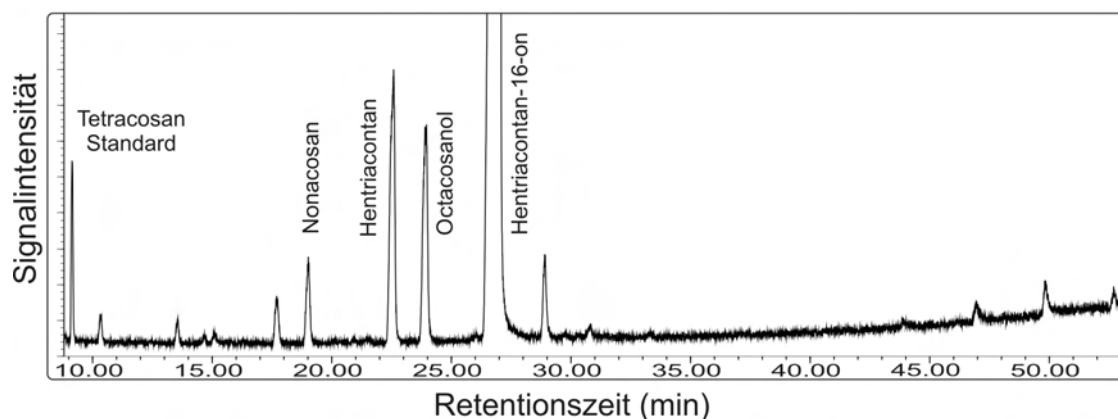


Abbildung 3.3: Ergebnisse der Massenspektrometrie von Porreewachs

Die Kombination beider Methoden liefert sowohl Information über die Wachskomponenten im Gemisch (MS), als auch über deren Menge (GC). Bei der Auswertung der erhaltenen Daten wurden sowohl Informationen über das Verhältnis der Stoffklassen, als auch über die unterschiedlichen Kettenlängen der Moleküle einer Klasse gewonnen und hinterher zum Vergleich herangezogen. Da die Säulen der Geräte am Anfang noch keine optimale Trennung erreichen, wurde als erster Wert immer das zur Mengenbestimmung und Orientierung eingespritzte Tetracosan definiert und die Peaks im Anfangsbereich ( $< 8 \text{ min}$ ) nicht berücksichtigt. Die Ergebnisse der Auswertung sind in Abbildung 3.4 aufgezeigt.

Diagramm 3.4 zeigt den jeweiligen Anteil der einzelnen Stoffgruppen am Gesamt-wachs an. Die dominierende Klasse sind die Ketone mit einem Anteil von 55,45%. Dabei ist zu beachten, dass nur Hentriacontan-16-on als einziger Vertreter der Ketone identifiziert werden konnte. In abnehmender Menge folgen Ester (17,67%), Alkane

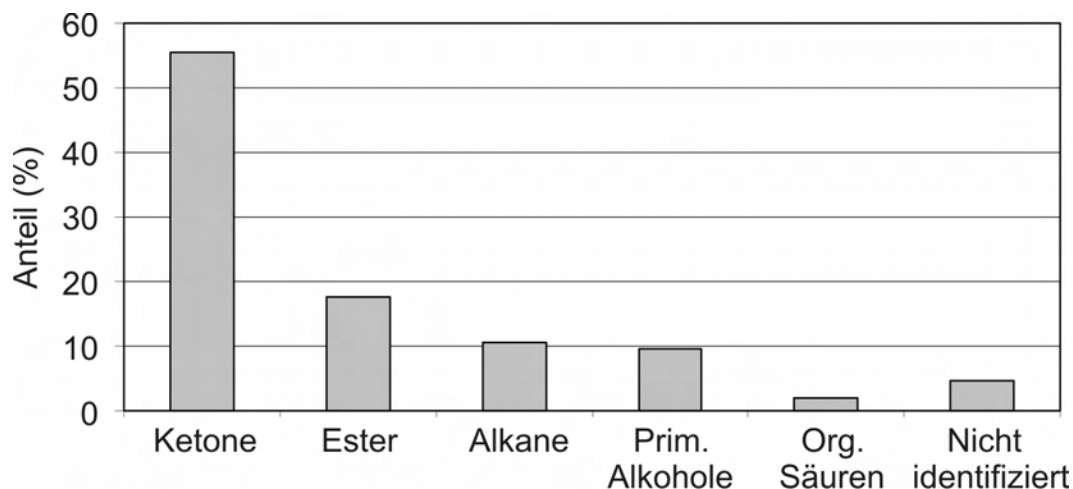


Abbildung 3.4: Ergebnisse der GC-MS-Analysen von Porreewachs, die Zusammensetzung ist nach Stoffklassen aufgelistet

(10,64%), primäre Alkohole (9,54%) und Carbonsäuren (2,00%). Damit liegt der Anteil an identifizierten Wachskomponenten bei 95,3%.

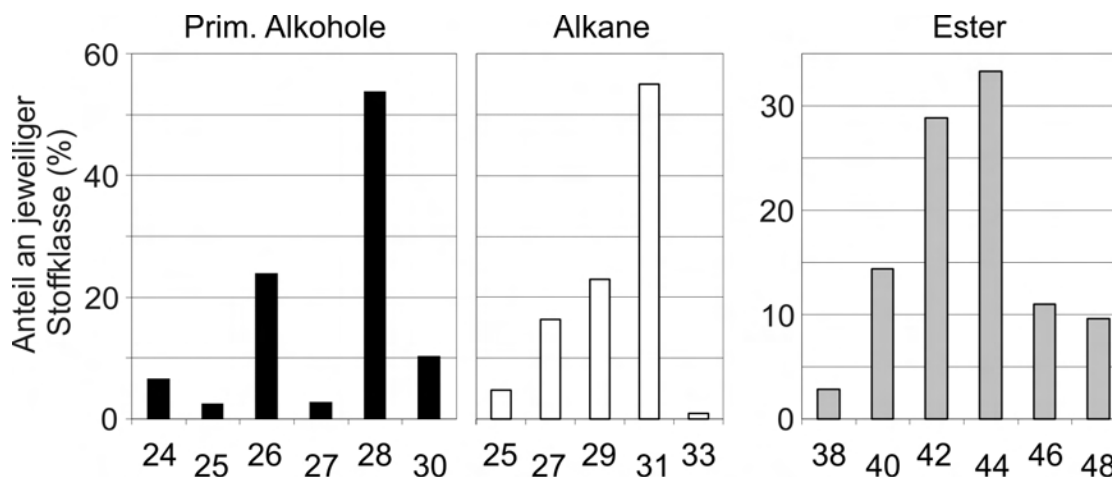


Abbildung 3.5: Ergebnisse der GC-MS-Analyse der prim. Alkohole, Alkane und Ester von Porreewachs

Während Hentriacontan-16-on als einzige Keto-Verbindung bestimmt wurde, spalten sich die übrigen Klassen in mehrere Moleküle verschiedener Kettenlängen auf. Bei Estern, welche nur eine geradzahlige Länge aufweisen, dominieren die  $C_{42}$  (28,86%, Anteil innerhalb der Stoffklasse) und  $C_{44}$  (33,29%) Längen, gefolgt von den übrigen  $C_{38}$

(2,81%),  $C_{40}$  (14,39%),  $C_{46}$  (11,03%) und  $C_{48}$  (9,62%) Estern. Geradzahlige Kohlenstoffanzahl ist auch bei den primären Alkoholen zu finden, hier dominiert  $C_{28}$  (53,83%), gefolgt von  $C_{26}$  (23,93%),  $C_{30}$  (10,32%) und  $C_{24}$  (6,66%). Ungradzahlige Alkohole kommen nur in geringen Mengen als  $C_{25}$  (2,51%) und  $C_{27}$  (2,75%) vor. Carbonsäuren sind in geringen Mengen als  $C_{24}$  (17,10%),  $C_{26}$  (25,64%),  $C_{28}$  (37,55%) und  $C_{30}$  (19,70%) nachzuweisen. Bei Alkanen hingegen sind nur ungerade Kettenlängen zu finden. Die dominierende Kettenlänge ist hierbei  $C_{31}$  (54,94%) gefolgt von  $C_{29}$  (23,00%),  $C_{27}$  (16,32%),  $C_{25}$  (4,80%) und  $C_{33}$  (0,94%). Der nicht identifizierte Anteil am Gesamtwachs beträgt 4,7%, dieser konnte aufgrund der geringen Peakfläche nicht eindeutig im Massenspektrometer bestimmt und den einzelnen Stoffgruppen zugeordnet werden.

### 3.1.3 *Iris germanica* L. - Schwertlilie

Im Gegensatz zur Wachsextraktion bei Porree mittels Chloroform wurden bei *Iris germanica* L. drei verschiedene Methoden eingesetzt: Die Cryomethode zur Analyse des epikutikularen Gesamtwachses, weshalb sie auch öfters im Text als Gesamtfraktion des epikutikularen Wachses bezeichnet wird, die Stempelmethode zur Analyse der dreidimensionalen Wachsstrukturen und die Klebermethode, um die Chemie des zweidimensionalen Wachsfilms analysieren zu können (Methoden siehe Kapitel 2.3). Die drei Methoden sollen zeigen, ob mit ihrer Hilfe eine Trennung von Wachsfilm und -strukturen möglich ist und damit eine strukturselektive Analyse der Wachskomponenten durchgeführt werden kann. Definitiv ermöglichen sie jedoch eine separate Untersuchung der Blattober- (adaxial, die der Sprossachse zugewandte Seite) und Blattunterseite (abaxial, von der Sprossachse abgewandte Seite), was sich als großer Vorteil erweisen kann, da einige Pflanzen unterschiedliche Wachsstrukturen auf den jeweiligen Blattseiten haben und sich diese unterschiedlichen Wachschemien bei einer Chloroformextraktion vermischen würden. Aufgrund der Tatsache, dass die Menge der dreidimensionalen Wachsstrukturen auf der Blattoberseite oft dominiert, wurde die Blattoberseite bei den meisten Wachsabhebungen ausgewählt.

Während die massenspektrometrischen Analysen ausschließlich mit der Cryo-Fraktion durchgeführt wurden, waren für die gaschromatographischen Analysen Einzelmessungen jeder gewonnenen Wachsfraktion der entsprechenden Methode notwendig. Da sich die Lage der einzelnen Peaks aus der Gesamtfraktion nicht ändert, können die MS-Daten auch auf die anderen beiden Fraktionen übertragen werden. Die MS-Ergebnisse sind in Abbildung 3.7 und die GC-Daten in Diagrammform in Abbildung 3.8 zu sehen. Die Klebermethode war bei dieser Pflanze erfolgreich und es konnte, im Vergleich zu anderen Pflanzen, genügend Wachs für eine Analyse isoliert werden (Abbildung 3.6).

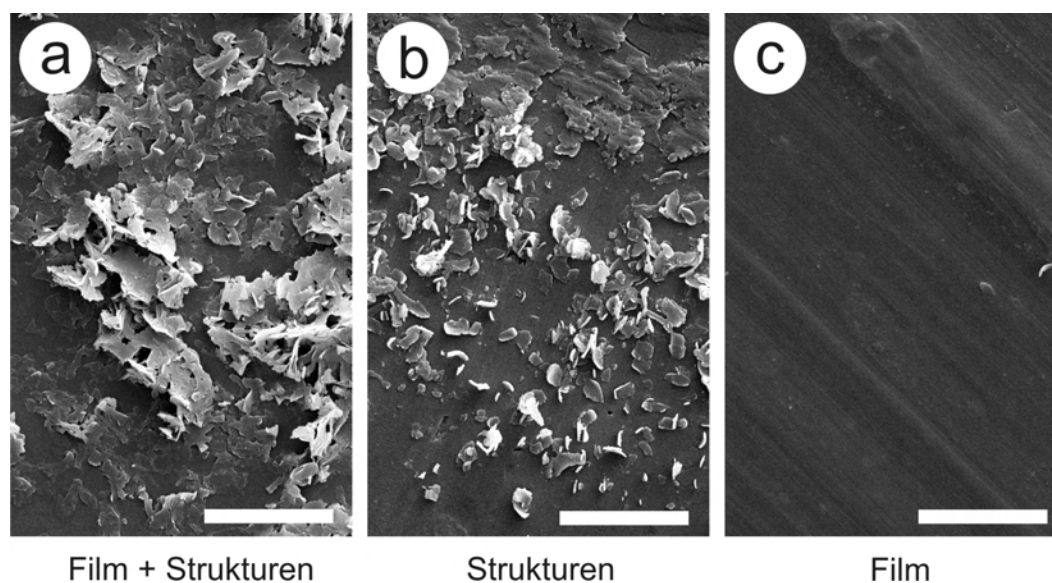


Abbildung 3.6: REM-Bilder der mit Wachs bedeckten Alufolie: a) Cryomethode; b) Stempelmethode; c) Klebermethode; Skalen: 8  $\mu m$

Abbildung 3.6 zeigt die verwendete Alufolie mit dem darauf befindlichen abgehobenen Wachs. Der flachliegende Wachsfilm (Abb. 3.6 c) ist aufgrund der Zweidimensionalität sowie der geringen Menge im REM nicht sichtbar, während bei der Cryomethode das Gesamtwachs und bei der Stempelmethode die dreidimensionalen Wachse oder deren Bruchstücke zu sehen sind. Die Ergebnisse werden in Abbildung 3.8 zusammengefasst. Gezeigt wird das Verhältnis der einzelnen Stoffklassen zueinander, welches zudem in die zwei auswertbaren Methoden unterteilt ist.

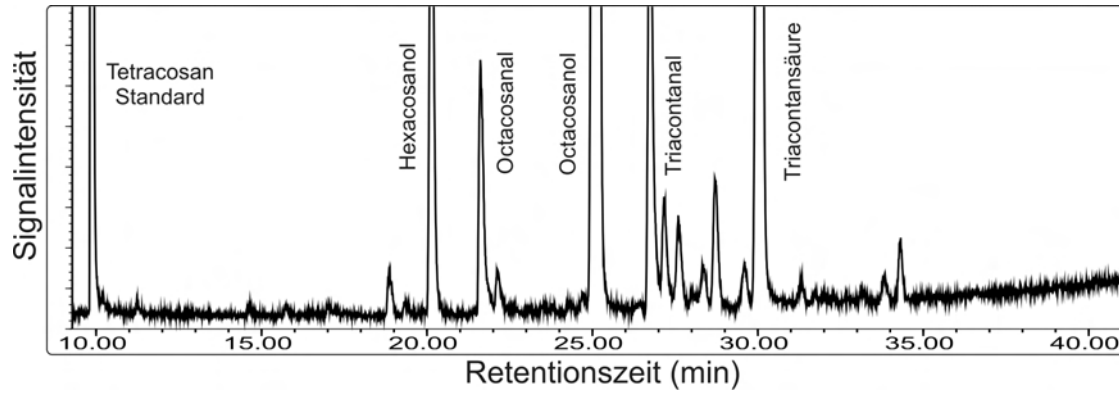


Abbildung 3.7: Ergebnisse der Massenspektrometrie von cryoisoliertem Iriswachs, welches auf der Alufolie haften blieb

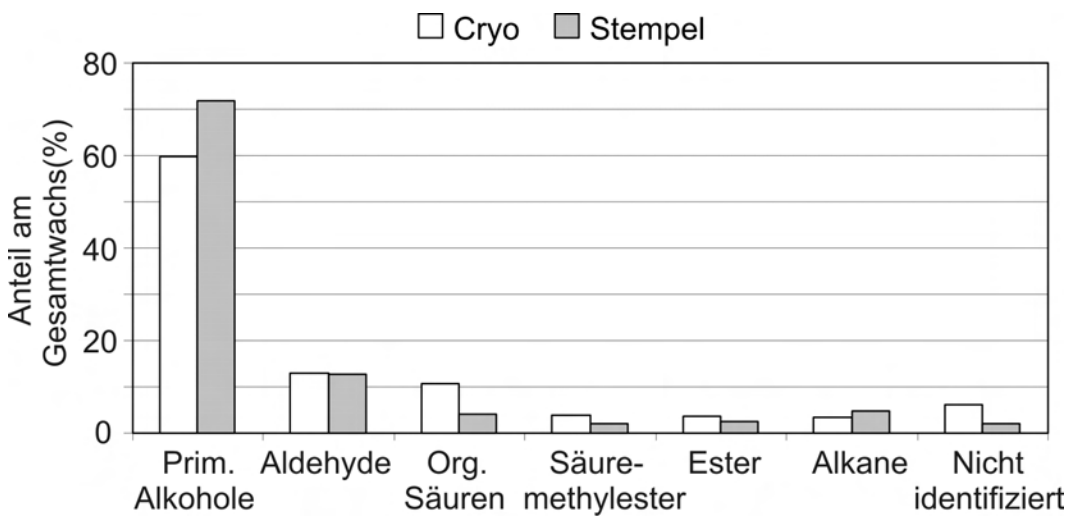


Abbildung 3.8: Ergebnisse der GC-MS-Analyse von Iriswachs. Die Zusammensetzung ist nach Klassen aufgelistet (methodenabhängig): Cryofraktion (weiß); Stempelfraktion (grau)



Diagramm 3.8 zeigt den Anteil der einzelnen Stoffklassen der beiden genutzten Methoden. In beiden dominieren eindeutig die primären Alkohole, wobei der Anteil der Cryofraktion (59,71 %) dem der Stempelfraktion unterliegt (71,81 %). Hingegen ist der Anteil der Aldehyde bei beiden Methoden nahezu gleich (St: 12,69 %, Cr: 12,86 %). In den anderen Stoffklassen werden wieder einige Unterschiede deutlich. Die Menge an organischen Säuren (Cr: 10,71 % zu St: 4,15 %), an Säuremethylestern (3,78 % zu 2,11 %) und an Estern (3,56 % zu 2,43 %) übersteigt bei der Cryomethode die Menge der Stempelmethode. Bei Alkanen kehrt sich das Verhältnis jedoch wieder um (Cr: 3,32 % zu St: 4,83 %). Da der Wachsfilm aus deutlich mehr Komponenten verschiedener Kettenlänge und Chemie besteht, ist der nicht identifizierte Anteil mit 6,05 % größer ausgefallen (St: 1,98 %).

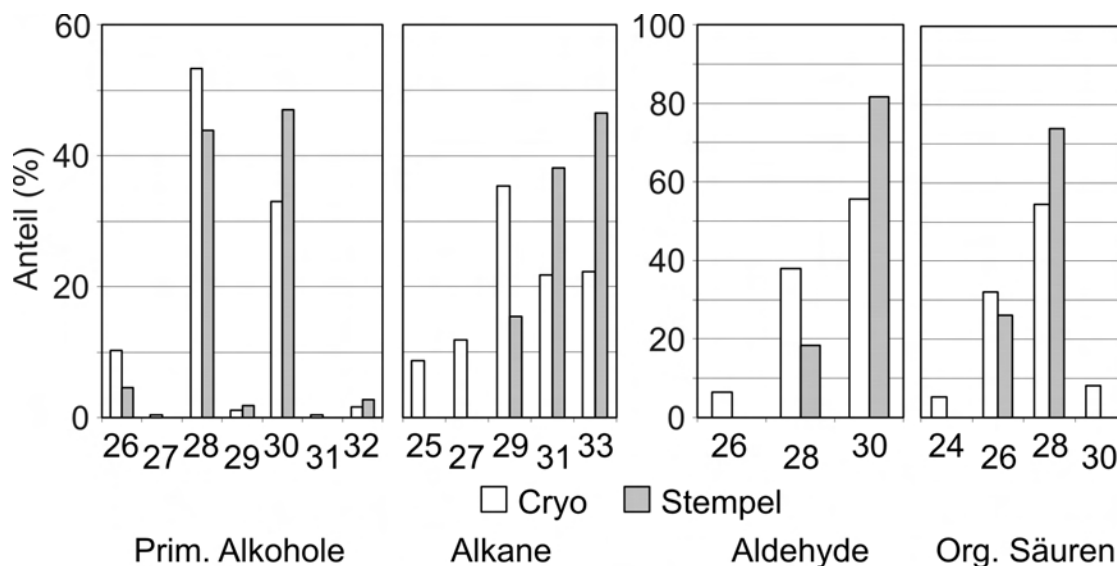


Abbildung 3.9: Details der Anteile der Alkohole, Alkane, Aldehyde und org. Säuren der GC-MS-Analyse der Cryo- (weiß) und Stempelfraktion (grau) von Iriswachs

In Abbildung 3.9 sind vier der sechs Hauptstoffklassen nach der Kohlenstoffkettenlänge und jeweiligen angewendeten Methode aufgeteilt. Diese vier Klassen repräsentieren den Großteil der Wachsmasse und sind in den meisten hier untersuchten Wachsen als dominierende Stoffklassen vertreten. Wie bei *Allium porrum* L. dominieren bei den primären Alkoholen geradzahlige Kettenlängen. Auch hier bildet bei der Cryomethode

Octacosanol mit 53,26 % vor Triaccontanol mit 33,02 % den größten Anteil an Alkoholen, während bei der Stempelmethode  $C_{30}$  auf 47,04 % und  $C_{28}$  auf 43,86 % kommen. Auch geringe Mengen von  $C_{26}$  (Cr: 10,24 % zu St: 4,55 %),  $C_{32}$  (Cr: 1,58 % zu St: 2,70 %) und den ungeradzahligen Nonacosanol  $C_{29}$  (Cr: 1,09 % zu St: 1,85 %) sind in beiden Fraktionen vertreten. Drei verschiedene Aldehyde,  $C_{26}$  (6,49 %),  $C_{28}$  (37,86 %) und  $C_{30}$  (55,66 %) bei der Cryomethode und  $C_{28}$  (18,37 %) und  $C_{30}$  (81,63 %) bei der Stempelmethode konnten nachgewiesen werden. Die  $C_{27}$  und  $C_{31}$  Alkohole sind nur in der Cryofraktion mit 0,39 bzw. 0,43 % präsent, während sie in der Stempelfraktion fehlen. Ein ähnliches Bild ist bei den organischen Säuren zu sehen, die geradzahligen Kettenlängen sind deutlich präsenter gegenüber den ungeradzahligen Längen. Die Cryomethode kann  $C_{24}$  (5,21 %),  $C_{26}$  (32,08 %),  $C_{28}$  (54,57 %) und  $C_{30}$  (8,14 %) nachweisen, die Stempelmethode lediglich  $C_{26}$  (26,09 %) und  $C_{28}$  (73,91 %). In der Cryofraktion wurden fünf unterschiedliche Alkane gefunden,  $C_{25}$  (8,72 %),  $C_{27}$  (11,89 %),  $C_{29}$  (35,33 %),  $C_{31}$  (21,82 %) und  $C_{33}$  (22,24 %). Die Stempelfraktion beinhaltet nur drei dieser Alkane,  $C_{29}$  (15,42 %),  $C_{31}$  (38,11 %) und  $C_{33}$  (46,47 %).

### 3.1.4 *Baptisia australis* L. - Indigolupine

Nach Durchführung der drei Separationsmethoden bei *Baptisia australis* L. stellt man größere Unterschiede zwischen den einzelnen Methoden fest. Dennoch konnte auch hier die Kleberfraktion aufgrund der geringen Wachsmasse nicht ausgewertet werden.<sup>1</sup> Die Analysen wurden mit dem Wachs der Blattoberseite durchgeführt. REM-Bilder der mit Wachs bedeckten Aluminiumfolie sind in Abbildung 3.10 zu sehen.

Das MS-Diagramm ist in Abbildung 3.11 gezeigt, und die Ergebnisse der Analyse sind in Abbildung 3.12 als Diagramm zu sehen.

---

<sup>1</sup>Bei der Analyse der Stempelfraktion ist ein großer Peak (ca 20 % der Gesamtmasse) aufgetaucht, der keiner der Wachskomponenten zugeordnet werden konnte. Da es sich wohl um eine Kontamination handelte (Massenspektrum zeigte ein großes Spektrum von Massen, die untypisch für Wachse sind) und er an einer Stelle lag, an der sich auch in der Gesamtfraktion kein Peak befand, wurde dieser Anteil herausgerechnet und nicht weiter in den Diagrammen berücksichtigt.

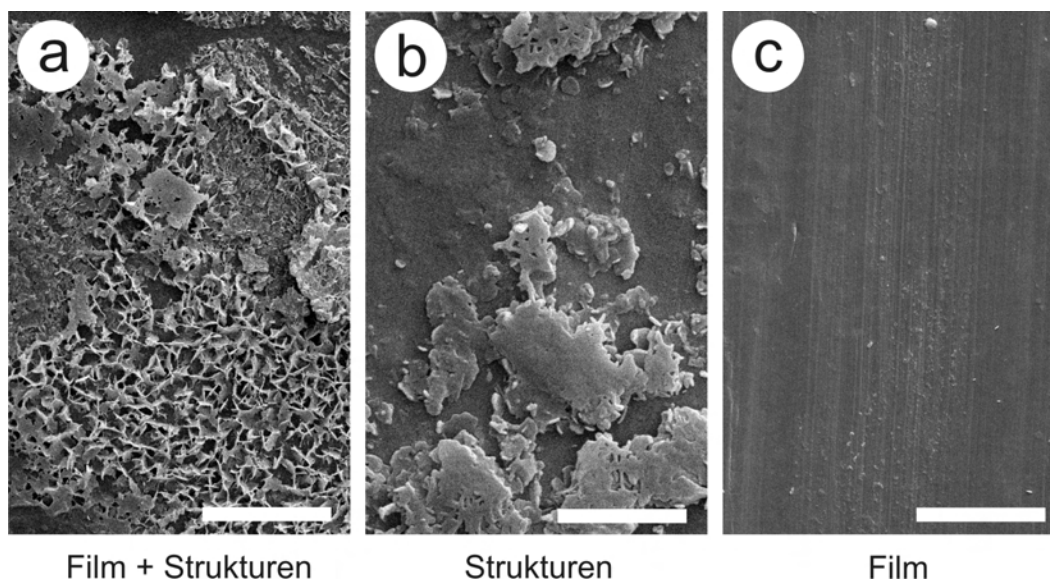


Abbildung 3.10: REM-Bilder der mit Wachs bedeckten Alufolie: a) Cryomethode; b) Stempelmethode; c) Klebermethode; Skalen: a)  $16\ \mu\text{m}$ , b) und c)  $8\ \mu\text{m}$

Abbildung 3.12 zeigt, dass die Hauptstoffklasse des Wachses von *Baptisia australis* L. wie bei *Iris germanica* L. primärer Alkohol ist. Mit einem Anteil von 53,65 % in der Gesamtfraktion und sogar 65,84 % in der Stempelfraktion hebt er sich deutlich gegenüber der zweithäufigsten Klasse, den Aldehyden, hervor. Diese sind mit 19,29 % (Cryo) und 11,15 % (Stempel) vertreten. Die Menge der Ester (Cr: 15,65 % zu St: 3,37 %) gleicht der der organischen Säuren (Cr: 6,29 % zu St: 12,92 %), auch wenn sie von der Verteilung auf die Methoden nahezu gespiegelt sind. Alkane bilden in beiden Fraktionen die Schlussgruppe mit 2,96 % (Cryo) und 1,76 % (Stempel). Der Anteil der nicht identifizierten Wachse liegt bei 2,16 % bei der Cryomethode und 4,97 % bei der Stempelmethode.

Die Abbildungen 3.13 und 3.14 zeigen die Aufsplittung der einzelnen Stoffklassen nach Kohlenstoffkettenlänge und Gewinnungsmethode. In der Klasse der primären Alkohole ist eine große Vielzahl an verschiedenen Kettenlängen nachzuweisen. Die Cryofraktion enthält alle Längen zwischen  $C_{24}$  und  $C_{34}$ , die Stempelfraktion lässt in diesem Bereich lediglich  $C_{25}$  und  $C_{33}$  aus. Ein weiterer Unterschied sind die verschiedenen An-

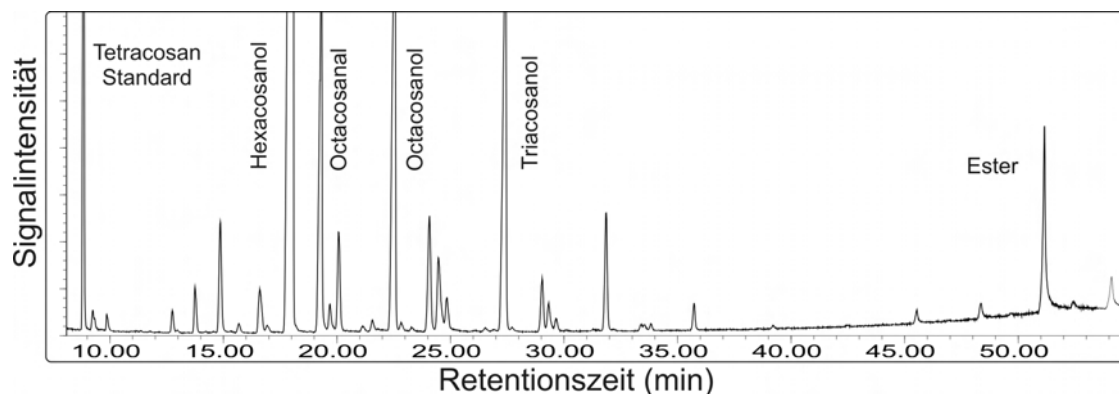


Abbildung 3.11: Ergebnisse der Massenspektrometrie von Indigolupinewachs

teile der Kettenlängen, bei der Gesamtfraction dominieren  $C_{26}$  (50,42 %),  $C_{28}$  (17,00 %) und  $C_{30}$  (16,77 %), bei der Stempelfraction  $C_{30}$  (47,62 %),  $C_{24}$  (34,27 %) und  $C_{26}$  (9,70 %). Die restlichen Alkohole spielen mit ihrem maximalen Anteil von ca. 5 % keine nennenswerte Rolle. Aldehyde sind ebenfalls in großer Vielzahl vertreten, bei der Cryofraction sind alle Längen von  $C_{24}$  bis  $C_{34}$  zu finden, wobei  $C_{28}$  (43,60 %),  $C_{30}$  (17,20 %),  $C_{26}$  (15,87 %) und  $C_{32}$  (9,92 %) den Hauptanteil ausmachen.

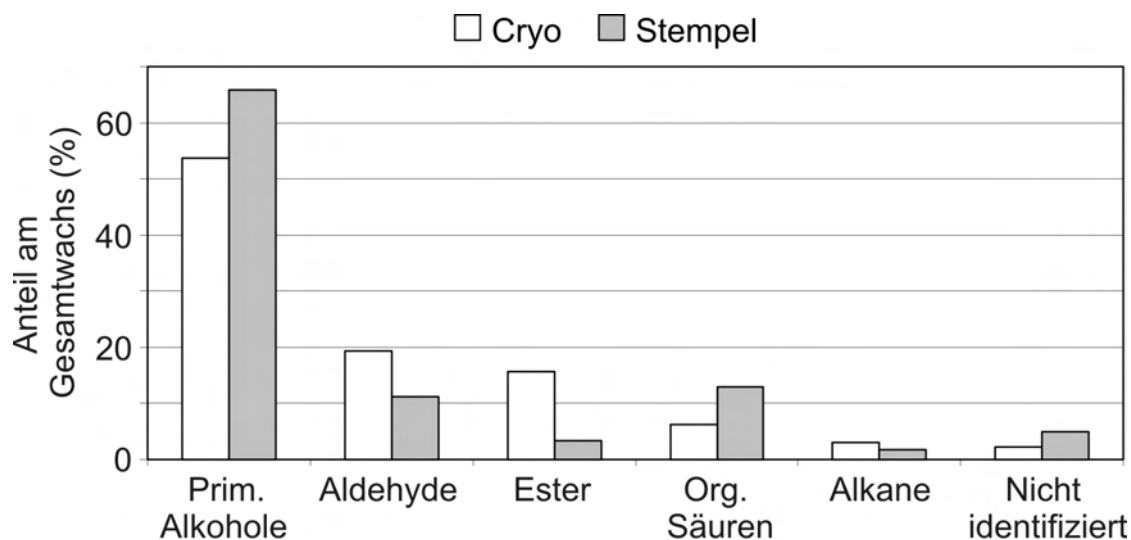


Abbildung 3.12: Ergebnisse der GC-MS-Analyse von *Baptisia australis* L.-Wachs, welches auf der Alufolie haften blieb; die Zusammensetzung ist nach Klassen aufgelistet (methodenabhängig); Cryomethode (weiß); Stempelmethode (grau)

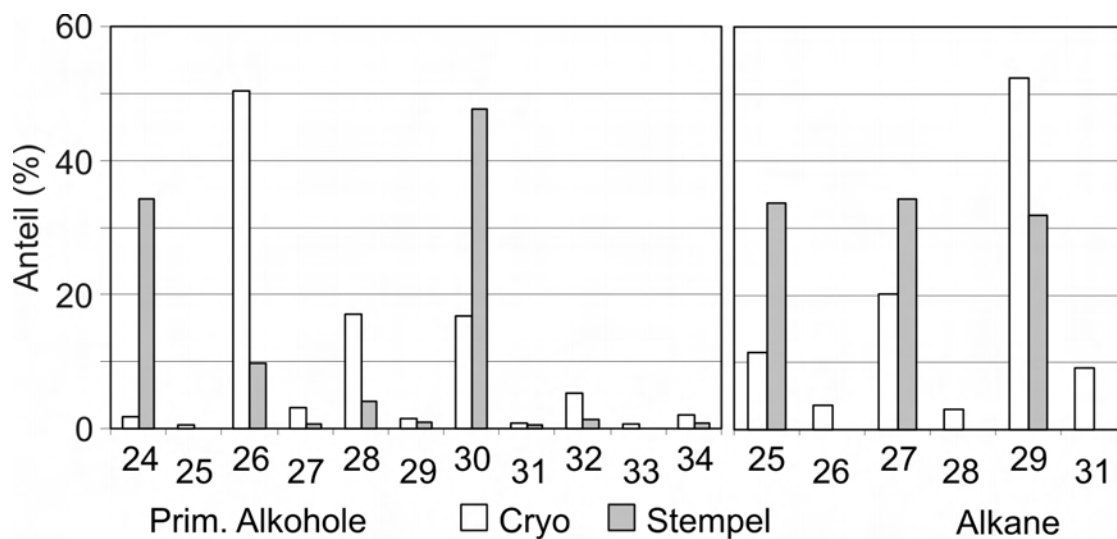


Abbildung 3.13: Anteile der Alkohole und Alkane der GC-MS-Analyse der Cryo- (weiß) und Stempelfraktion (grau) von Indigolupinewachs

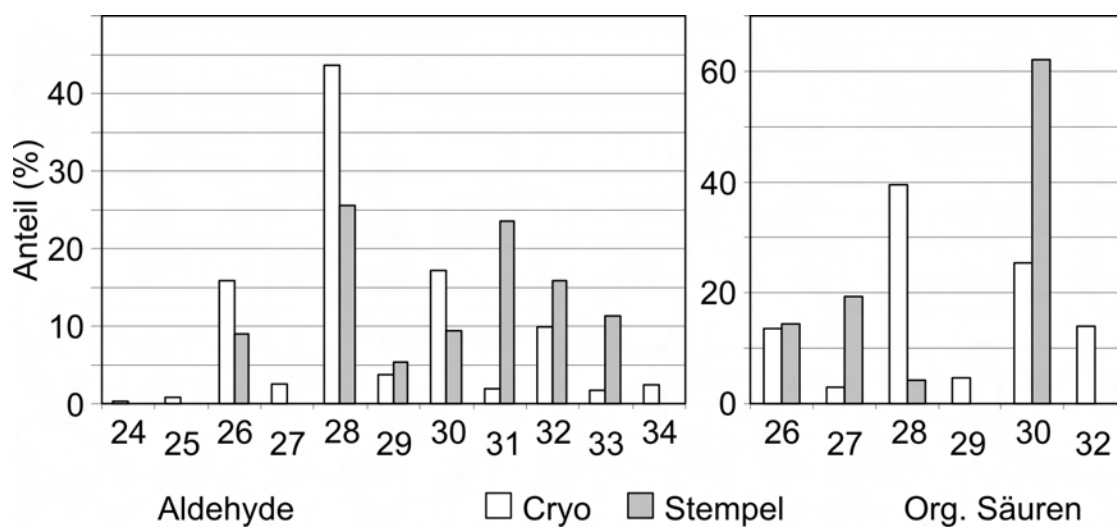


Abbildung 3.14: Anteile der Aldehyde und org. Säuren der GC-MS-Analyse der Cryo- (weiß) und Stempelfraktion (grau) von Indigolupinewachs

Die Analyse der Stempelfraktion weist Lücken auf, die Längen  $C_{24}$ ,  $C_{25}$ ,  $C_{27}$  und  $C_{34}$  fehlen, allerdings ist das Verteilungsmuster der Längen deutlich homogener ( $C_{28}$  (25,53 %),  $C_{31}$  (23,56 %),  $C_{32}$  (15,91 %),  $C_{33}$  (11,27 %),  $C_{30}$  (9,41 %),  $C_{26}$  (8,98 %) und  $C_{29}$  (5,34 %)). Auch die organischen Säuren unterscheiden sich in den beiden Fraktionen. Während die Cryomethode die Kettenlängen  $C_{26}$  (13,48 %),  $C_{27}$  (2,89 %),  $C_{28}$  (39,56 %),  $C_{29}$  (4,66 %),  $C_{30}$  (25,45 %) und  $C_{32}$  (13,96 %) aufweist, sind in der Stempelfraktion nur die Längen  $C_{26}$  (14,37 %),  $C_{27}$  (19,35 %),  $C_{28}$  (4,19 %) und  $C_{30}$  (62,09 %) enthalten. Die letzte in fast allen Wachsen vorhandene Gruppe sind die Alkane, welche sich hier in einem breiten Spektrum zeigen. Die Cryomethode konnte die Längen  $C_{25}$  (11,47 %),  $C_{26}$  (3,66 %),  $C_{27}$  (20,25 %),  $C_{28}$  (3,04 %),  $C_{29}$  (52,39 %) und  $C_{31}$  (9,19 %) isolieren. Durch die Gewinnung mittels Stempelmethode lassen sich nur drei Kettenlängen nachweisen,  $C_{25}$  (3,04 %),  $C_{27}$  (52,39 %) und  $C_{29}$  (9,19 %) und es zeigt sich, dass die ungeradzahligen Längen bei den Alkanen eindeutig dominieren.

## 3.2 Wachsröhrchen

Aufgrund der Tatsache, dass Wachsröhrchen den Schwerpunkt dieser Arbeit bilden (siehe auch Kapitel 4) wurden zwei Arten ausgewählt, die gleiche Röhrchentypen aufweisen (Nonacosanolröhrchen, Namensgeber ist die Hauptkomponente Nonacosan-10-ol), zum einen *Tropaeolum majus* L., zum anderen *Thalictrum flavum* ssp. *glaucum* L. Beide wurden mittels der Gas- und Massenspektrometrie analysiert, und am Wachs der Kapuzinerkresse wurden zusätzlich Röntgenbeugungsuntersuchungen durchgeführt.

### 3.2.1 Kristallstruktur der Wachsröhrchen

Das für diesen Versuch benutzte Wachs von *Tropaeolum majus* L. wurde zuvor mittels der Cryomethode von der Blattoberfläche gewonnen und entsprechend präpariert (Kapitel 2.6.2). Die Ergebnisse der Röntgenbeugungsmessungen zeigt Diagramm 3.15.

Das erhaltene Diagramm weist deutlich mehr Peaks als das des Porreewachses auf. Der „long-spacings“-Bereich mit seinen fünf Peaks zeigt ein typisches Muster für

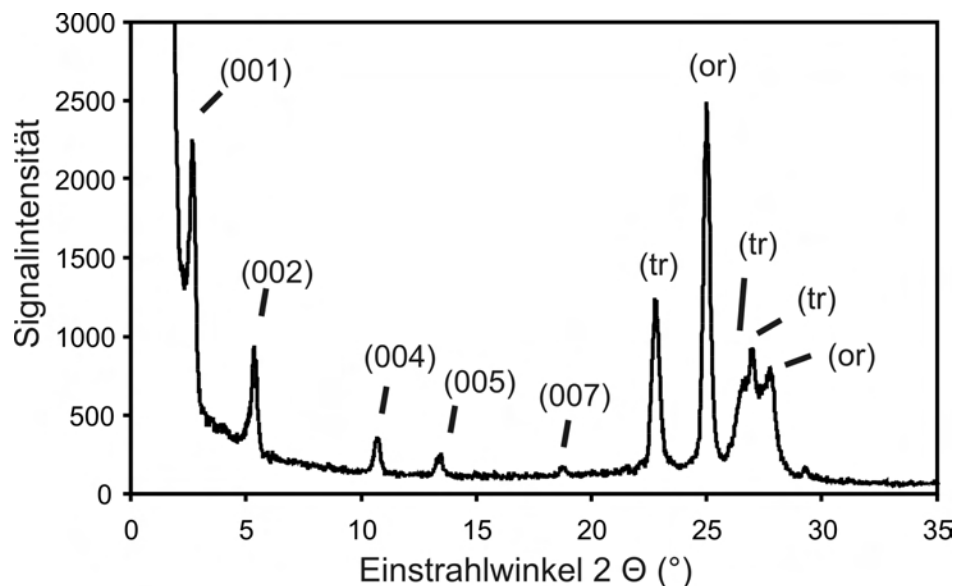


Abbildung 3.15: Ergebnisse der Röntgenbeugungsmessungen an Kapuzinerkressewachs; or = orthorhombisches, tr = triklines Gitter

Nonacosan-10-ol, bei dem die (003) und (006) Reflexionen fehlen. Die Begründung liegt in der Tatsache, dass das Sauerstoffatom der Hydroxygruppe etwa bei einem Drittel der Kohlenstoffkette sitzt und damit jedes dritte Signal unterdrückt. Auch bei dieser Messung musste eine Korrektur im Anfangsbereich gemacht werden, da der Röntgenstrahl in dem Bereich durch seinen flachen Einstrahlwinkel zu einer Verschiebung des Signals führt. Ebenfalls typisch für Nonacosanolröhrchen sind die Peaks bei 4,631, 3,987 und 3,834 Å, welche für eine trikline Ordnung sprechen. Reines Nonacosanol zeigt allerdings keine Signale bei 4,235 und 3,733 Å, diese müssen den mit enthaltenen primären Alkoholen, wie zuvor bei Wachsschuppen, zugeordnet werden (ENSIKAT et al. 2006<sup>26</sup>). Tabelle 3.2 zeigt die Beugungssignale am Wachs der Kapuzinerkresse.

### 3.2.2 *Tropaeolum majus* L. - Kapuzinerkresse

Die Analyse des Wachses von *Tropaeolum majus* L. steht stark im Vordergrund, da das verwendete Wachs auch als Hauptmaterial für die Rekristallisationsexperimente dient (Kapitel 4). Die visuellen Ergebnisse der Cryo-, Stempel- und Klebermethode sind in

Tabelle 3.2: Aufstellung der gemessenen Peaks der Röntgenbeugungsmessungen von Kapuzinerkressewachs

Winkel $2\theta$ [Grad]	Kristallgitter / ( $hkl$ )	Netzabstand $d$ [Å]
2,66	(001)	38,570
5,34	(002)	19,233
10,72	(004)	9,623
13,38	(005)	7,735
18,74	(007)	5,571
22,74	triklin	4,631
25,00	orthorhombisch (110)	4,235
26,68	triklin	3,987
27,00	triklin	3,834
27,74	orthorhombisch (200)	3,733

Abbildung 3.16 gezeigt. Ein deutlicher Unterschied bei der Stempelmethode ist, dass nicht nur kleine Wachsmengen abgebrochen sind, sondern ganze Wachschuster, wie sie auf der Blattoberfläche vorzufinden sind.

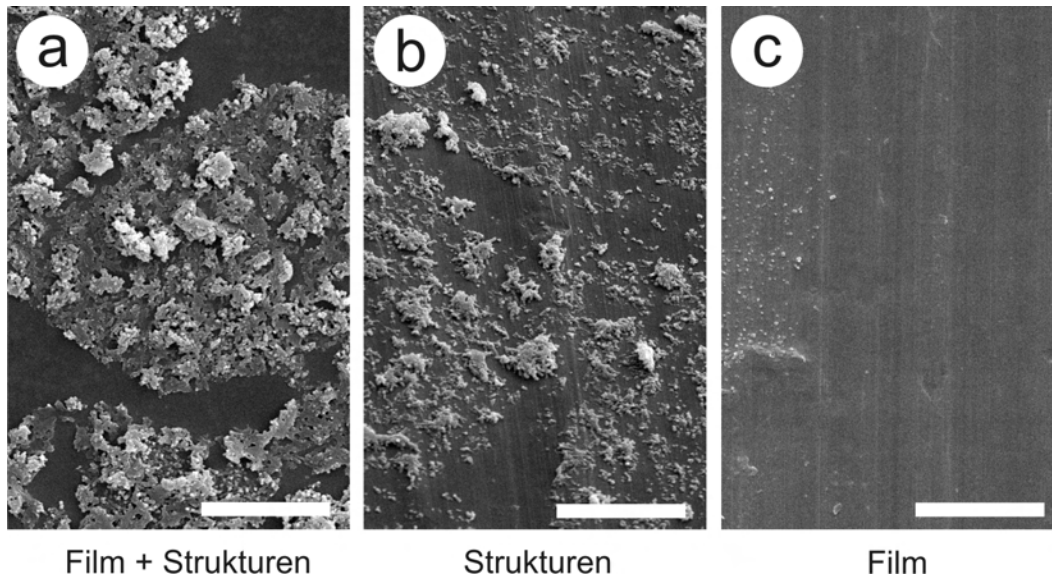


Abbildung 3.16: REM-Bilder der mit Wachs bedeckten Alufolie nach Isolierung der Wachse mittels a) Cryomethode; b) Stempelmethode; c) Klebermethode; Skalen:  $8\ \mu\text{m}$



Die massenspektrometrischen Messungen wurden mit der Cryofraktion durchgeführt. Das erhaltene Spektrum ist in Abbildung 3.17 zu sehen.

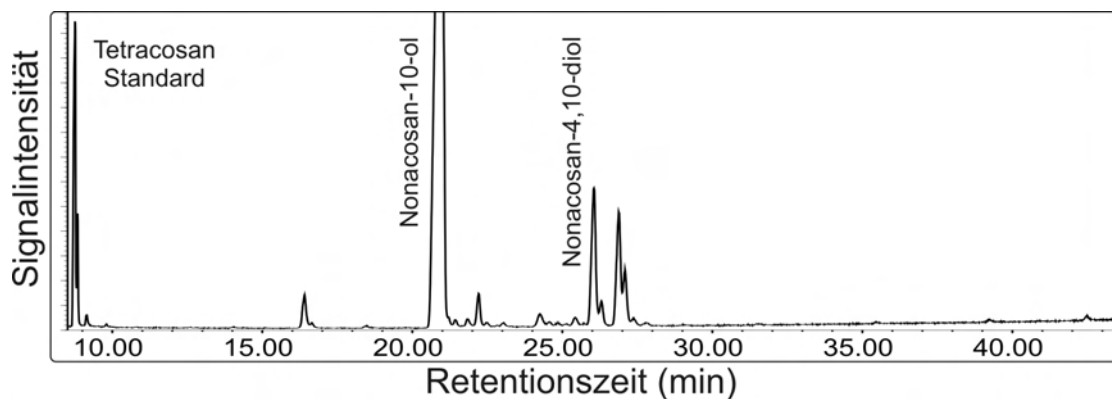


Abbildung 3.17: Ergebnisse der Massenspektrometrie von Kapuzinerkressewachs

Abbildung 3.18 zeigt die Zusammensetzung des Waxes der Cryo- und Stempel-methode. Auch hier wurde eine Unterteilung nach Stoffklassen durchgeführt.

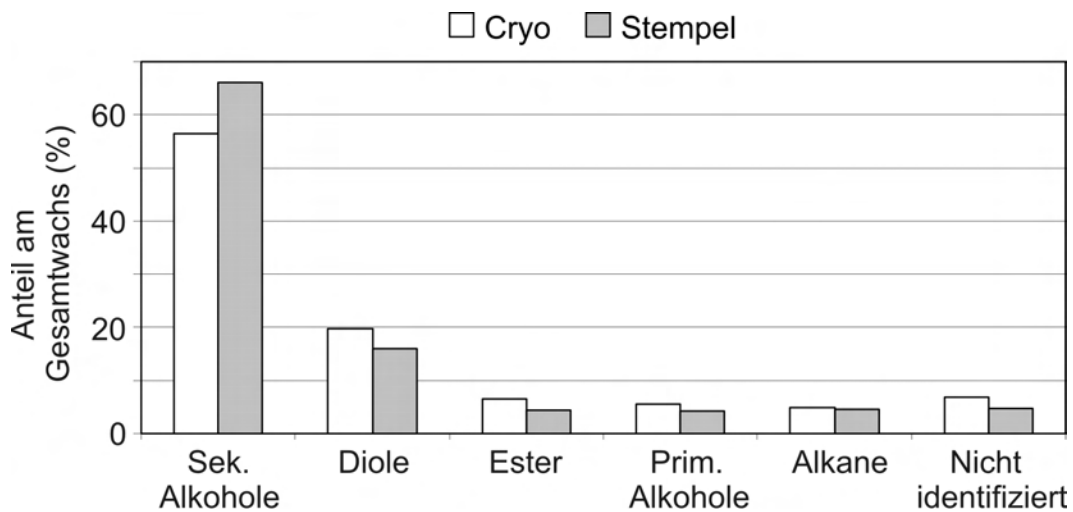


Abbildung 3.18: Ergebnisse der GC-MS-Analysen von Kapuzinerkressewachs, welches auf der Alufolie haften blieb; die Zusammensetzung ist nach Klassen aufgelistet (methodenabhängig)

Das Wachs von *Tropaeolum majus* L. weist eine Besonderheit auf. Hier ist der Anteil der sekundären Alkohole am höchsten. Mit 56,39 % in der Gesamtfraction und sogar 66,04 % in der Stempelfraction kommt keine andere vorhandene Stoffklasse auf solche hohen Werte. Die Diole (Cr: 19,68 %; St: 15,92 %) bilden die zweithäufigste Klasse. Die Anteile der Ester (Cr: 6,60 %; St: 4,47 %), der primären Alkohole (Cr: 5,55 %; St: 4,25 %) und Alkane (Cr: 4,88 %; St: 4,51 %) liegen eng beieinander.

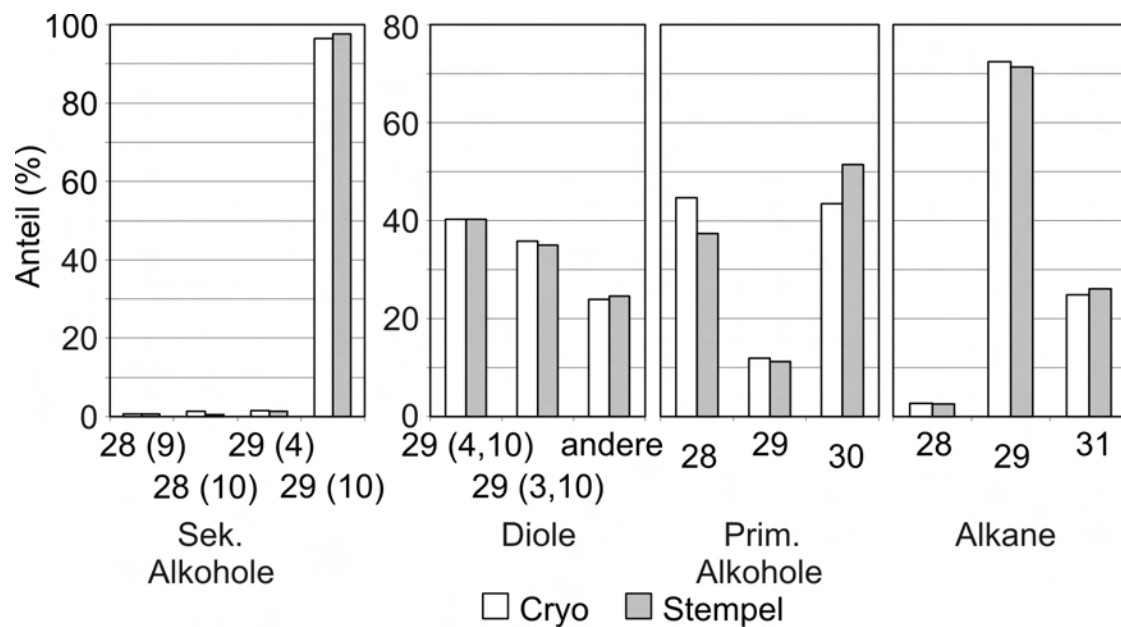


Abbildung 3.19: Anteile der primären und sekundären Alkohole, Diole (in Klammer die Positionen der Hydroxygruppen) und Alkane der GC-MS-Analyse der Cryo- (weiß) und Stempelfraction (grau) von Kapuzinerkressewachs

Das Wachs der Kapuzinerkresse zeigt nur eine geringe Vielfalt ihrer Homologen, bei der die sekundären Alkohole als Stoffklasse dominieren. Den Hauptteil mit 96,43 % in der Cryofraction (97,57 % in der Stempelfraction) macht das Nonacosan-10-ol aus, welches auch der Namensgeber für diesen Röhrchentyp ist (ein anderer Typ sind z.B. die  $\beta$ -Diketon-Röhrchen). Das Octacosan-9-ol (Cr: 0,71 %; St: 0,67 %), das Octacosan-10-ol (Cr: 1,37 %; St: 0,44 %) und das Nonacosan-4-ol (Cr: 1,48 %; St: 1,33 %) bilden einen sehr geringen Anteil aus. Von den primären Alkoholen lassen sich nur drei verschiedene

nachweisen ( $C_{28}$  (Cr: 44,64 %; St: 37,34 %),  $C_{29}$  (Cr: 11,86 %; St: 11,18 %) und  $C_{30}$  (Cr: 43,51 %; St: 51,49 %)). Die Alkane sind ebenfalls mit nur drei verschiedenen Homologen vertreten, dem  $C_{28}$  (Cr: 2,66 %; St: 2,56 %),  $C_{29}$  (Cr: 72,49 %; St: 71,29 %) und dem  $C_{31}$  (Cr: 24,85 %; St: 26,15 %). Die Auswertung der Diole erwies sich als schwierig. Vier der sechs Diole konnten nicht eindeutig bestimmt werden, da jeweils zwei von ihnen die gleiche Masse haben und somit an der gleichen Position im MS-Spektrum auftauchen und sie vier Hydroxygruppen besitzen, welche sechs Molekülkombinationen ergeben. Diese vier Diole spielen jedoch eine untergeordnete Rolle, da ihre Anteile jeweils unter 10 % liegen und sie in der Summe 23,86 % (Cr) bzw. 24,65 % (St) am Anteil der Diole ausmachen. Im Gegensatz dazu ist der Anteil von Nonacosan-4,10-diol (Cr: 40,29 %; St: 40,32 %) und von Nonacosan-3,10-diol (Cr: 35,86 %; St: 35,03 %) viel größer.

### 3.2.3 *Thalictrum flavum ssp. glaucum* L. - Wiesenraute

Die Wiesenraute besitzt die gleichen Wachsstrukturen wie die Kapuzinerkresse, auch wenn sich ihre Chemie geringfügig unterscheidet. Wie bei den Pflanzen zuvor wurden auch hier alle drei Methoden zur Wachsabhebung genutzt. Wie bei *Iris germanica* L. konnte auch hier eine ausreichend große Menge Wachsfilm mit der Klebermethode gewonnen werden, was eine Analyse ermöglichte. Um sicherzustellen, dass keine Kleberkomponenten die Analyseergebnisse verfälschen, wurde zuvor eine Referenzprobe nur mit dem Kleber gemessen. Die Ergebnisse der drei Wachsabhebungen zeigt Abbildung 3.20.

Das Massenspektrum (Abbildung 3.21) zeigt die Ergebnisse der durchgeführten Analyse der Cryofraktion des Wachses. Hier wurde aber aufgrund der größeren Anzahl an Peaks, die man im GC-Spektrum sah, auch das MS-Spektrum der Stempelfraktion für die nicht zuordenbaren Peaks zu Rate gezogen.

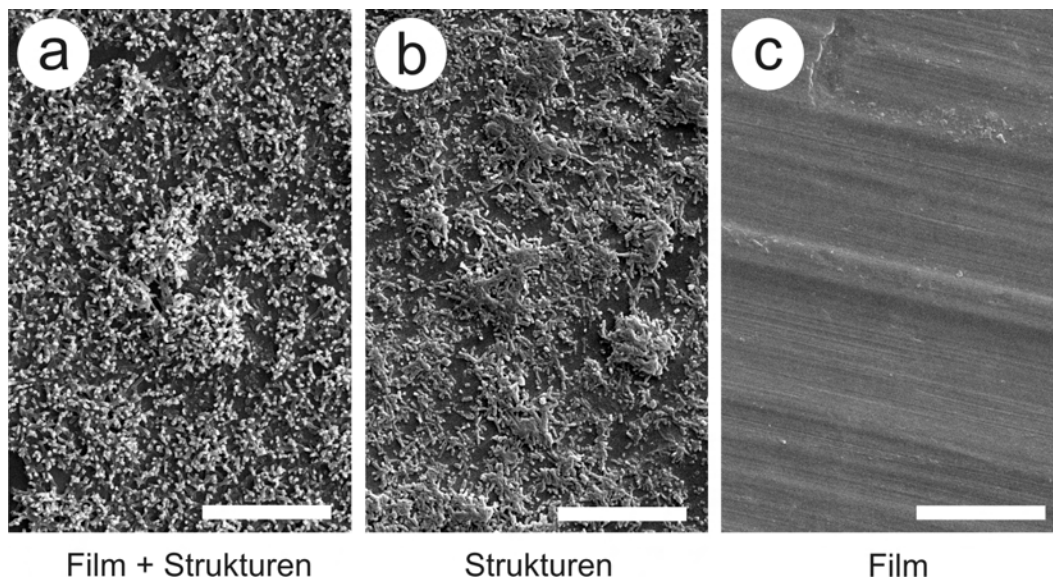


Abbildung 3.20: REM-Bilder der mit Wachs bedeckten Alufolie: a) Cryomethode; b) Stempelmethode; c) Klebermethode; Skalen: 8  $\mu\text{m}$

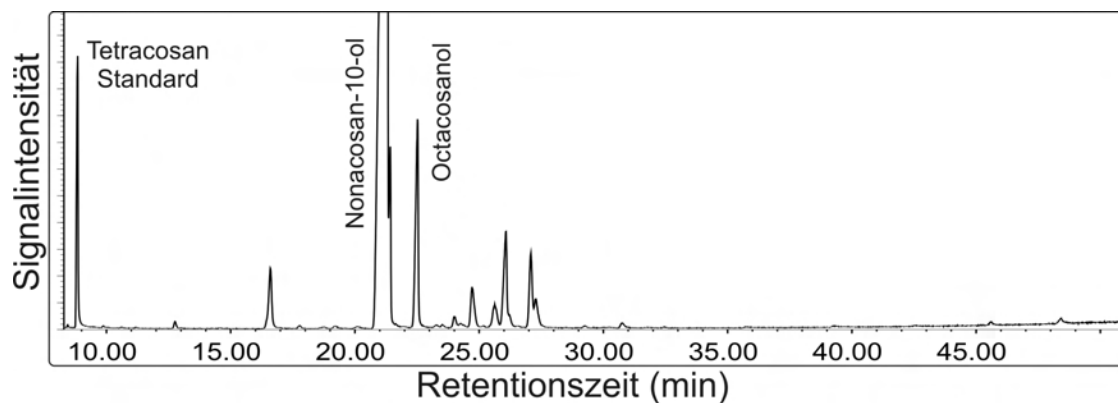


Abbildung 3.21: Ergebnisse der Massenspektrometrie von Wiesenrautewachs

In Abbildung 3.22 sind die wichtigsten vier Stoffklassen in ihre Anteile nach den entsprechenden Wachsabhebemethoden aufgeteilt. Die sekundären Alkohole dominieren bei allen drei Methoden mit 57,94 % (Cryo), 66,64 % (Stempel) und mit 45,79 % bei der Klebermethode. Beim weiteren Vergleich der drei Fraktionen fällt auf, dass bestimmte Stoffklassen in der Stempelfraktion stärker und in der Klebermethode wiederum schwächer vertreten sind als in der Gesamtfraktion (Cryo). Dieses Phänomen

setzt sich neben den sek. Alkoholen auch bei der primären Alkoholen und Diolen fort. Der Anteil der prim. Alkohole und Diole ist bei der Cryomethode bei 8,64 bzw. 8,08 %, bei der Stempelmethode bei 11,74 bzw. 9,49 % und bei der Klebermethode bei 3,75 bzw. 2,56 %. In der Kleberfraktion konnten keine Alkane und Ester nachgewiesen werden, weshalb der nicht identifizierte Anteil bei 47,89 % liegt. Bei den bisher analysierten Kleberfraktionen war der prozentuale Anteil der Alkane und Ester im Wachsfilm im Vergleich zu den Anteilen dieser Stoffklassen der anderen Methoden deutlich höher. Folgt man dieser Tatsache, enthält der Film den höchsten Anteil an Alkanen und Estern. Zudem lassen sich diese beiden Stoffklassen fast ausschließlich im zweidimensionalen Film auffinden.

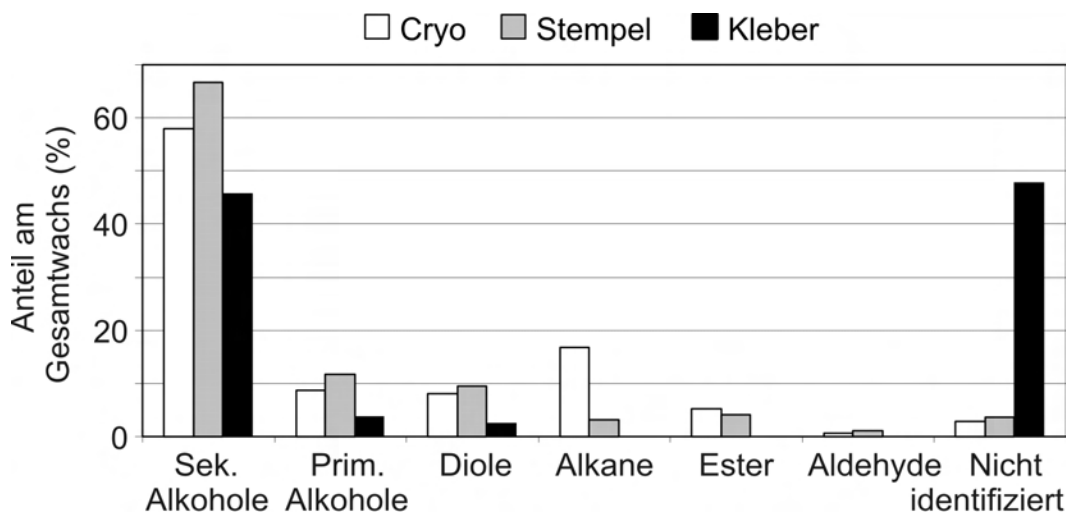


Abbildung 3.22: Ergebnisse der GC-MS-Analyse von Wiesenrautewachs. Die Zusammensetzung ist nach Klassen aufgelistet (methodenabhängig)

In der Cryofraktion ist der Anteil an Alkanen (16,79 %) höher als der der Ester (5,17 %), während in der Stempelfraktion beide ähnlich gering sind (3,96 % zu 4,15 %). Aldehyde sind mit 0,56 % in der Cryofraktion und mit 1,12 % in der Stempelfraktion vertreten. Der Anteil an nicht identifizierten Stoffen ist bei beiden Methoden niedrig (Cr: 2,81 % zu St: 4,02 %).

Abbildung 3.23 zeigt die Aufsplittung von drei der vier wichtigsten Stoffklassen in ihre jeweiligen Moleküle, nach Kettenlänge und Isolationsmethode sortiert. Bei der

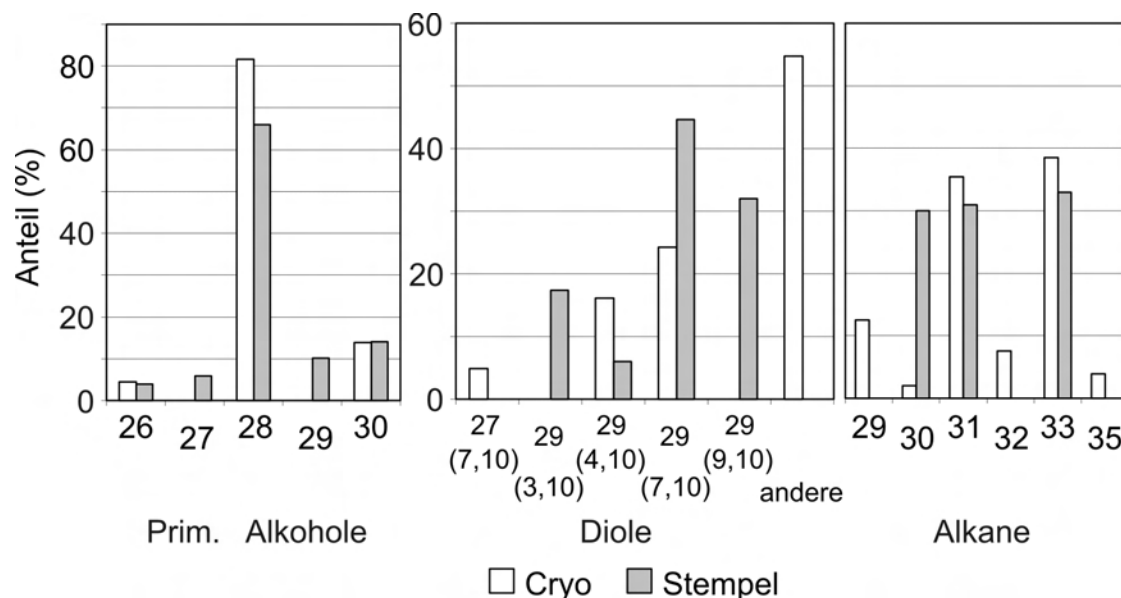


Abbildung 3.23: Anteile der Alkohole, Diole und Alkane der GC-MS-Analyse der Cryo- (weiß) und Stempelfraktion (grau) von Thalictrum-Wachs

vierten Stoffklasse, den Diolen, ist hauptsächlich Nonacosan-10-ol nachweisbar, d.h. dessen Anteil liegt über 95% an den Diolen. Eine weitere Aufspaltung dieser Stoffklasse ist demnach nicht sinnvoll. Bei der weiteren Analyse der drei anderen Klassen werden wiederum nur die Stoffklassen der Cryo- und Stempelfraktion aufgespalten, da die Vielfalt an Moleküllängen und Stoffklassen bei der Kleberfraktion fehlt. Bei der wichtigsten Stoffklasse ist die Anzahl der sekundären Alkohole auf drei unterschiedliche Kettenlängen begrenzt und zwei davon lassen sich entweder nur in der Cryo- oder nur in der Stempelfraktion wiederfinden ( $C_{28}$  Octacosan-10-ol nur in Cr: 3,63 % und  $C_{27}$  Heptacosan-10-ol nur in St: 3,36 %;  $C_{29}$  Nonacosan-10-ol Cr: 96,37 % zu St: 96,64 %). Die Kleberfraktion enthält lediglich das Nonacosan-10-ol (= 100 %), was interessanterweise der wichtige Baustein der Röhrchen und damit der hier vorliegenden dreidimensionalen Strukturen ist. Eine saubere Trennung war folglich nicht möglich. Bei den primären Alkoholen dominiert eindeutig das Octacosanol (Cr: 81,71 % zu St: 66,05 % zu Kl: 100 %) gefolgt von  $C_{30}$  (Cr: 81,71 % zu St: 66,05 %) und  $C_{26}$  (Cr: 81,71 % zu St: 66,05 %). Die Stempelfraktion weist noch den  $C_{27}$  (5,85 %) und  $C_{29}$

(10,17 %) Alkohol auf. Die für die Röhrenbildung mitbenötigten Diole sind in geringen Mengen durch alle Methoden gewonnen worden. In der Kleberfraktion ist nur das Nonacosan-7,10-diol zu finden. Die Cryofraktion weist eine größere Vielfalt an Diolen auf, das Nonacosan-4,10-diol (16,07 %), das Nonacosan-7,10-diol (24,30 %), das Heptacosan-7,10-diol (4,91 %) und vier weitere Nonacosandiole, bei denen aber die Position der Hydroxygruppen nicht eindeutig zugeordnet werden kann, da jeweils zwei Peaks übereinander liegen und sie viele mögliche Kombinationen bezüglich der Position der Hydroxygruppen aufweisen (Peak 1+2: 36,01 und Peak 3+4: 18,71 %). In der Stempelfraktion sind drei verschiedene Diole nachzuweisen, das Nonacosan-4,10-diol (18,49 %), das Nonacosan-7,10-diol (47,46 %) und das Nonacosan-9,10-diol (34,04 %). Die Zusammensetzung der Alkane ähnelt der der zuvor bei anderen Wachsen festgestellten. In der Cryofraktion dominiert die Länge  $C_{33}$  (36,19 %) vor  $C_{31}$  (33,31 %),  $C_{29}$  (23,51 %),  $C_{35}$  (3,65 %) und  $C_{32}$  (3,33 %). In der Stempelfraktion lassen sich nur noch drei Alkane unterschiedlicher Kettenlängen nachweisen,  $C_{33}$  (67,26 %),  $C_{30}$  (24,68 %) und  $C_{31}$  (8,06 %). Die Kleberfraktion enthielt keine eindeutig nachweisbaren Alkane.

### 3.3 Wachsfilme

Die dritte untersuchte Wachsstruktur sind die Wachsfilme, zu der in dieser Arbeit auch die Wachskrusten gezählt werden. Da Filme im eigentlichen Sinne keine dreidimensionale Struktur aufweisen, wurden nur die Cryomethode und die Chloroformextraktion zur Wachsgewinnung bei *Citrus limon L.* genutzt. Die Verwendung der Cryomethode ermöglicht die Trennung der Wachse der Blattober- (BOS) und Blattunterseite (BUS) und intra- und epikutikularer Bestandteile. Die geringe Menge der Blätter von *Citrus sinensis L.* reduzierte die durchgeführten Methoden auf die Cryomethode der Blattoberseite.

### 3.3.1 Kristallstruktur der Wachsfilme

Die Morphologien der im Rahmen der hier durchgeführten kristallographisch untersuchten Wachse waren alle dreidimensional. Wachskrusten (die eine gewisse Dicke aufweisen und damit als dreidimensional angesehen werden können) und -filme weisen auch eine Kristallstruktur auf. Für diesen Nachweis wurde Wachs jeweils von der Blattoberseite (Kruste) und Blattunterseite (Film) mittels der Cryomethode abgehoben und mittels Röntgenbeugung untersucht. Das Spektrum des Wachses der BOS ist in Abbildung 3.24 zu sehen. Da die Wachse nicht mittels Chloroform extrahiert wurden, sind im Wachs eingebettete Verunreinigungen, die nicht durch eine Ultraschallbehandlung herausgelöst wurden, mit in die Analyse eingeflossen. Dies könnte die Peaks erklären, die im Bereich von  $\theta = 10$  bis  $20^\circ$  und bei  $31^\circ$  auftauchen. Aufgrund ihrer Position und der fehlenden Peaks in Bereich unter  $10^\circ$  sind sie keiner bekannten Wachsstuktur zuzuordnen. Lediglich die beiden Peaks bei  $\theta = 25,06$  und  $27,88^\circ$  zeigen eine orthorhombische Kristallordnung. Tabelle 3.3 zeigt diese Ergebnisse.

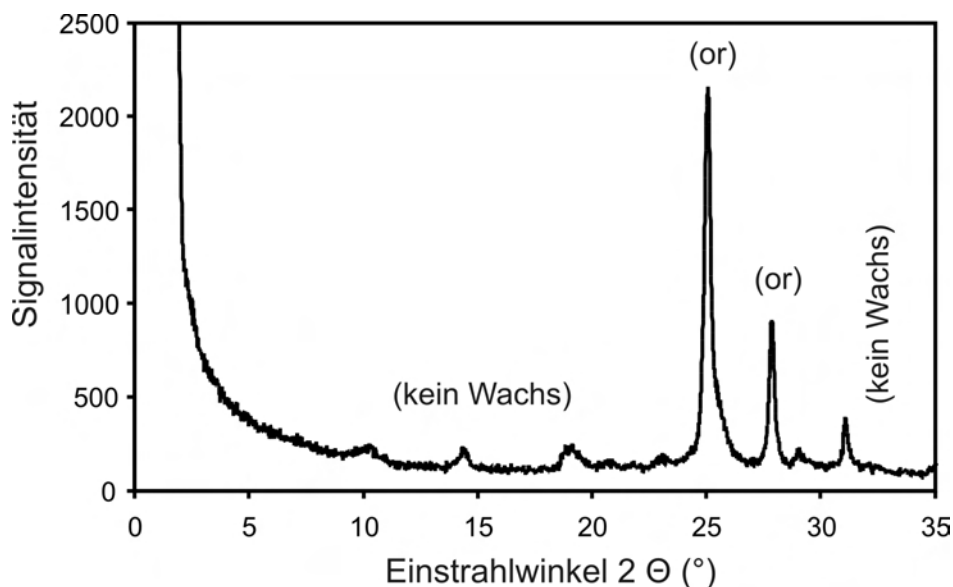


Abbildung 3.24: Ergebnisse der Röntgenbeugungsmessungen von Citruswachs (Zitrone) der Blattoberseite, or = orthorhombisches Gitter, kein Wachs = Peaks entsprechen keinen bekannten (Wachs-)Kristallgittern



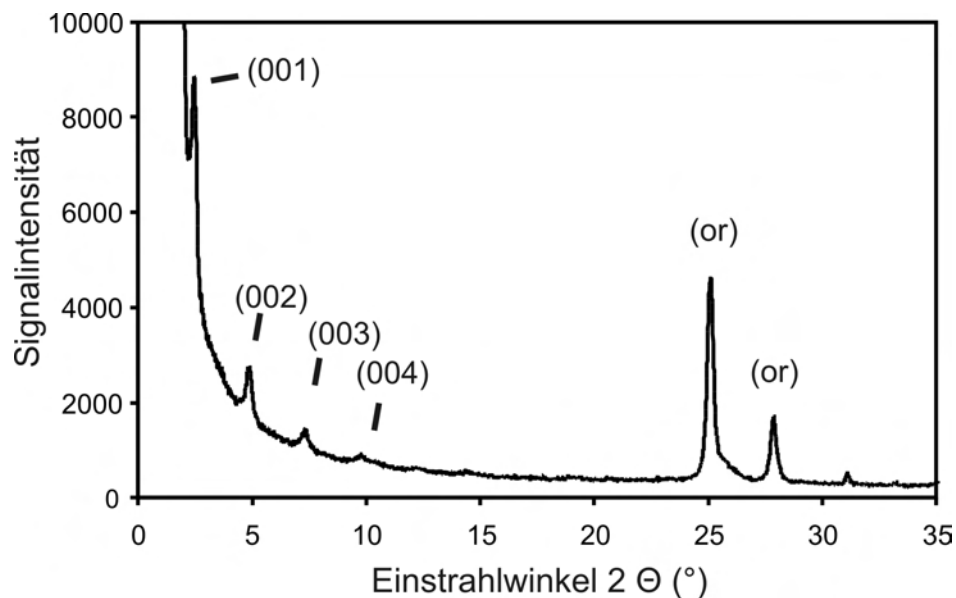


Abbildung 3.25: Ergebnisse der Röntgenbeugungsmessungen von Citruswachs (Zitrone) der Blattunterseite, or = orthorhombisches Gitter

Tabelle 3.3: Aufstellung der gemessenen Peaks der Röntgenbeugungsversuche von Citrusblattwachs (BOS oben und BUS unten)

Winkel $2\theta$ [Grad]	Kristallgitter / $(hkl)$	Netzabstand $d$ [Å]
10,26	-	10,049
14,42	-	7,188
19,14	-	5,459
25,06	orthorhombisch	4,226
27,88	orthorhombisch	3,828
31,08	-	3,467
2,46	(001)	41,703
4,86	(002)	21,128
7,32	(003)	14,049
25,08	orthorhombisch	4,222
27,86	orthorhombisch	3,830
31,10	-	3,465

Die kristallographische Untersuchung des Wachses der Blattunterseite zeigte viel weniger Verunreinigungen als das der Blattoberseite. In unteren Teil der Tabelle 3.3 sind alle vorhandenen Peaks und ihre Position aufgelistet. Im „long-spacing“-Bereich sind drei Peaks zu sehen, die einen nahezu regelmäßigen Abstand voneinander haben. Im „short-spacings“-Bereich sind die für eine orthorhombische Kristallordnung typischen Peaks bei 25,06 und 27,88  $\theta$  zu sehen (Abbildung 3.25).

### 3.3.2 *Citrus limon L.* - Zitrone

Die Gewinnung des Wachses der Blattober- und Blattunterseite von *Citrus limon L.* wurde mittels der Cryomethode durchgeführt. Von der Unterseite musste aufgrund geringer Wachsmengen Wachs von über 100 Blattstücken (a 1  $cm^2$ ) isoliert werden. Im Gegensatz zur Klebermethode konnten auch hier ausreichende Mengen gewonnen werden. Die massenspektroskopische Analyse wurde an der Chloroformextraktion durchgeführt, deren Resultate in Abbildung 3.26 zu sehen sind.

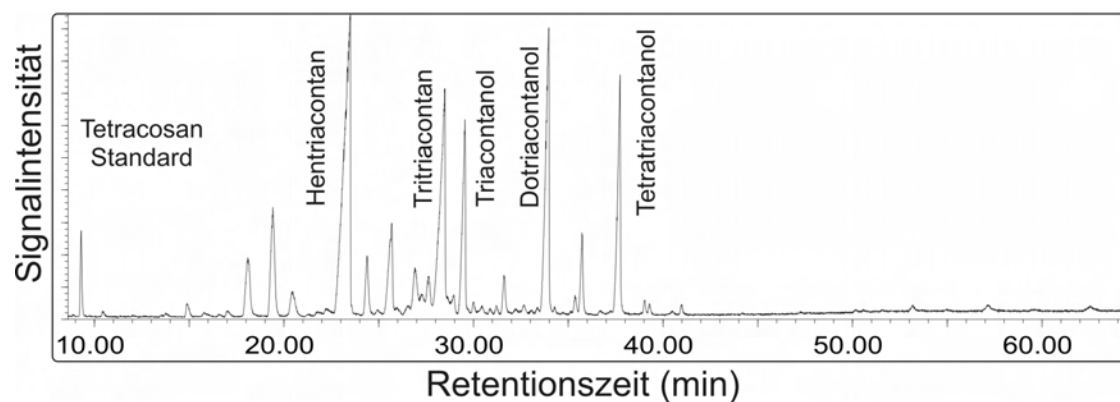


Abbildung 3.26: Ergebnisse der Massenspektrometrie von Zitronenblattwachs

Die Ergebnisse der GC-MS sind in Abbildung 3.27 dargestellt. Dabei wird in die Chloroformextraktionsfraktion (2 s Eintauchzeit) und die jeweiligen Cryofractionen der beiden Blattseiten unterteilt (Blattoberseite BOS, Blattunterseite BUS).

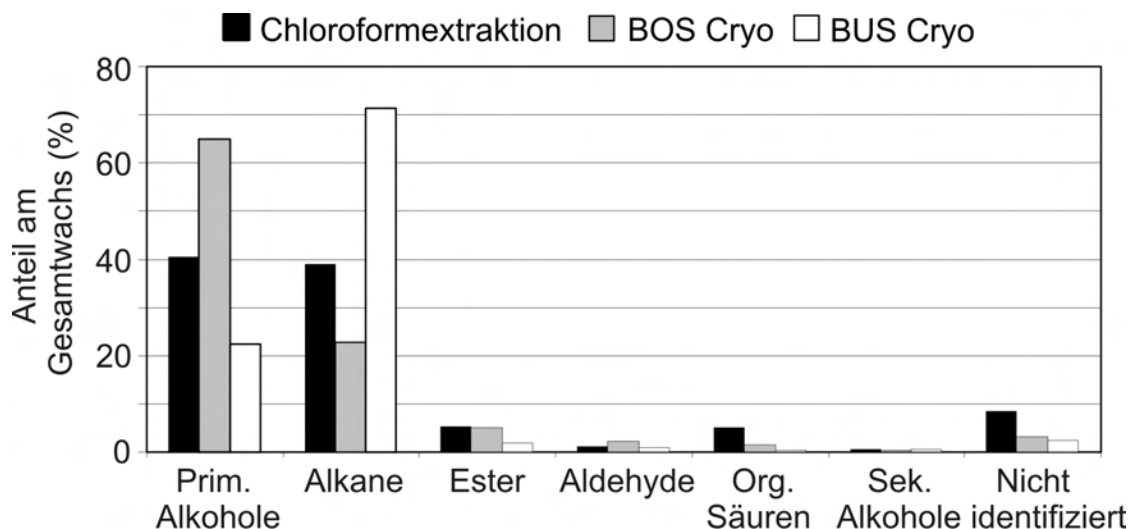


Abbildung 3.27: Ergebnisse der GC-MS-Analysen von Zitronenblattwachs, die Zusammensetzung ist nach Klassen aufgelistet; schwarz: Chloroformextraktionsfraktion ( $\text{CHCl}_3$ ); grau: Blattoberseitenfraktion BOS (Cryo); weiß: Blattunterseitenfraktion BUS (Cryo)

In der Gesamtfraction bilden die primären Alkohole und Alkane die beiden Hauptstoffklassen mit 40,52 bzw. 39,93 %. Nur in geringen Mengen sind auch Ester (5,22 %), organische Säuren (5,02 %), sekundäre Alkohole (0,61 %) und Aldehyde (1,21 %) vorhanden. Der nicht identifizierte Anteil liegt bei 8,50 %. Bei der Blattoberseite dominieren die primären Alkohole (64,98 %) vor Alkanen (22,72 %), Estern (5,02 %), Aldehyden (2,25 %), org. Säuren (1,42 %) und sekundären Alkoholen (0,39 %). Die nicht identifizierten Komponenten machen einen Anteil von 3,21 % aus. Bei der Blattunterseite wechseln die Alkane (71,31 %) und primären Alkohole (22,42 %) ihre prozentualen Anteile im Vergleich zu Anteilen der Blattoberseite, danach kommen Ester (1,85 %), Aldehyde (1,02 %), sek. Alkohole (0,53 %) und org. Säuren (0,35 %). Mit 2,52 % sind die unbekannten Komponenten nur schwach vertreten.

Die Abbildungen 3.28 und 3.29 zeigen die Aufspaltung von vier Stoffklassen der Blattober- und Unterseite in ihre verschiedenen Molekülkettenlängen. Aufgrund der starken Übereinstimmung mit beiden Cryofractionen wird die Analyse der Chloro-

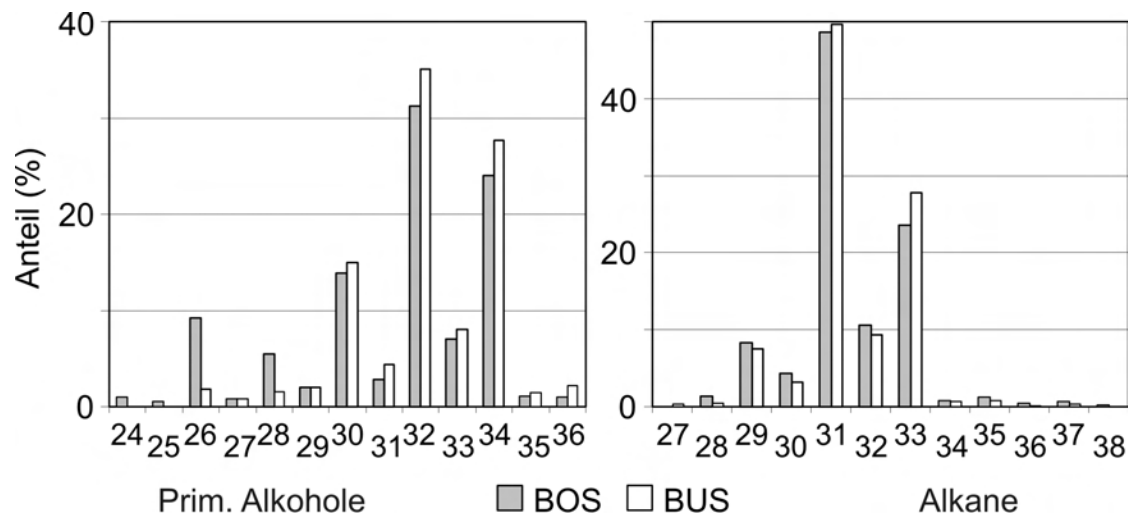


Abbildung 3.28: Anteile der Alkohole und Alkane der GC-MS-Analysen der mittels Cryomethode isolierten Wachse von Zitronenblättern (BOS Grau; BUS Weiß)

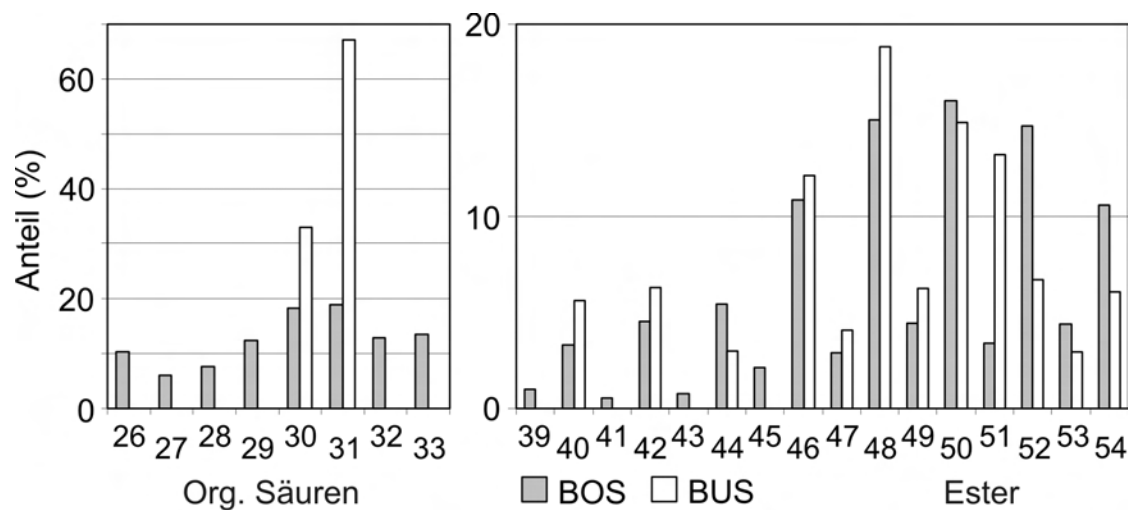


Abbildung 3.29: Anteile der organischen Säuren und Ester der GC-MS-Analysen der mittels Cryomethode isolierten Wachse von Zitronenblättern (BOS Grau; BUS Weiß)

formfraktion nicht graphisch dargestellt.

Primäre Alkohole spielen die Hauptrolle in der Blattoberseitenfraktion. Von  $C_{24}$  bis  $C_{36}$  sind alle Kettenlängen vorhanden, die dominierenden Längen sind  $C_{32}$  (31,19 %),  $C_{34}$  (24,01 %),  $C_{30}$  (13,95 %),  $C_{26}$  (9,18 %),  $C_{33}$  (7,02 %) und  $C_{28}$  (5,50 %). Die Anteile der restlichen Alkohole liegen weit unter 5 %. Eine ähnliche Verteilung ist beim Wachs der Blattunterseite zu finden, bei dem nur die  $C_{24}$  und  $C_{25}$  Längen fehlen. Die dominierenden Längen sind  $C_{32}$  (35,03 %),  $C_{34}$  (27,66 %),  $C_{30}$  (15,00 %) und  $C_{33}$  (8,06 %), alle anderen sind mit weniger als 5 % vertreten. Bei den Alkanen ähneln sich beide Fraktionen, die BOS-Fraktion enthält alle Längen von  $C_{28}$  bis  $C_{38}$  und die BUS-Fraktion von  $C_{27}$  bis  $C_{37}$ . Dabei ist das Verteilungsmuster, d.h. die Reihenfolge der am stärksten vertretenen Kettenlängen, gleich: Hentriacontan  $C_{31}$  (BOS: 48,61 %, BUS: 49,61 %) folgen die Längen  $C_{33}$  (BOS: 23,55 %, BUS: 27,80 %),  $C_{32}$  (BOS: 10,57 %, BUS: 9,32 %),  $C_{29}$  (BOS: 8,28 %, BUS: 7,48 %) und  $C_{30}$  (BOS: 4,32 %, BUS: 3,18 %). Die Fraktionen zeigen jedoch große Unterschiede bei den organischen Säuren. Während die Blattoberseite alle Längen von  $C_{26}$  bis  $C_{33}$  enthält, wobei  $C_{31}$  (18,96 %),  $C_{30}$  (18,30 %),  $C_{33}$  (13,47 %),  $C_{32}$  (12,83 %) und  $C_{26}$ -Säuren (10,35 %) dominieren und die anderen Längen mit weniger als 8 % vertreten sind. In der Fraktion der Blattunterseite sind nur die Kettenlängen  $C_{31}$  (67,11 %) und  $C_{30}$  (32,89 %) nachzuweisen. Die Verteilung der Esterkettenlängen in beiden Fraktionen ist wieder ähnlich. Während die Blattoberseite alle Kettenlängen von  $C_{39}$  bis  $C_{54}$  enthält, lässt die Unterseite die Längen  $C_{39}$  und  $C_{41}$  aus. Bei der BOS dominieren die gradzahligen Längen  $C_{50}$  (16,03 %),  $C_{48}$  (15,03 %),  $C_{52}$  (14,68 %),  $C_{46}$  (10,85 %) und  $C_{54}$  (10,55 %). Bei der BUS verschiebt sich die Verteilung Richtung kürzerer Kettenlängen ( $C_{48}$  (18,82 %),  $C_{50}$  (14,90 %),  $C_{51}$  (13,21 %) und  $C_{46}$  (12,11 %)). Alle anderen Kettenlängen liegen bei 6 % oder darunter.

### 3.3.3 *Citrus sinensis* L. - Orange

Als zweite Quelle für Wachsfilme diente das Wachs von *Citrus sinensis* L.. Dieses Wachs wurde mittels Cryomethode von der Blattoberseite abgehoben und analysiert.

Um eine vollständige Analyse aller Wachskomponenten zu erhalten, wurde die MS-Analyse mit einer mit Chloroform extrahierten Fraktion durchgeführt. Die Ergebnisse der Massenspektrometrie sind in Abbildung 3.30 zu sehen.

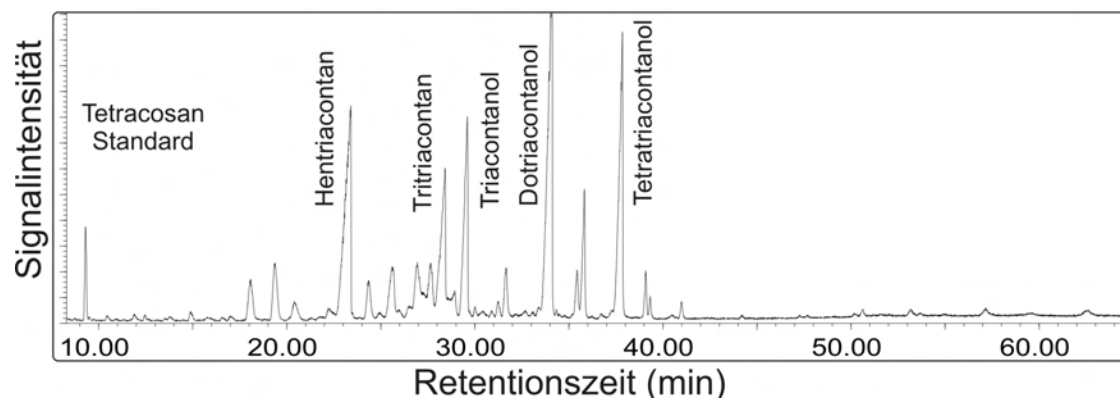


Abbildung 3.30: Ergebnisse der Massenspektrometrie von Orangenblattwachs

Abbildung 3.31 zeigt die gaschromatographischen Ergebnisse des Waxes der Blattoberseite. Das GC-Spektrum zeigte eine größere Anzahl von Substanzen an als Peaks im MS-Spektrum. Diese konnten erst mit Hilfe einer zusätzlichen MS-Analyse von einer Chloroformextraktion zugeordnet werden.

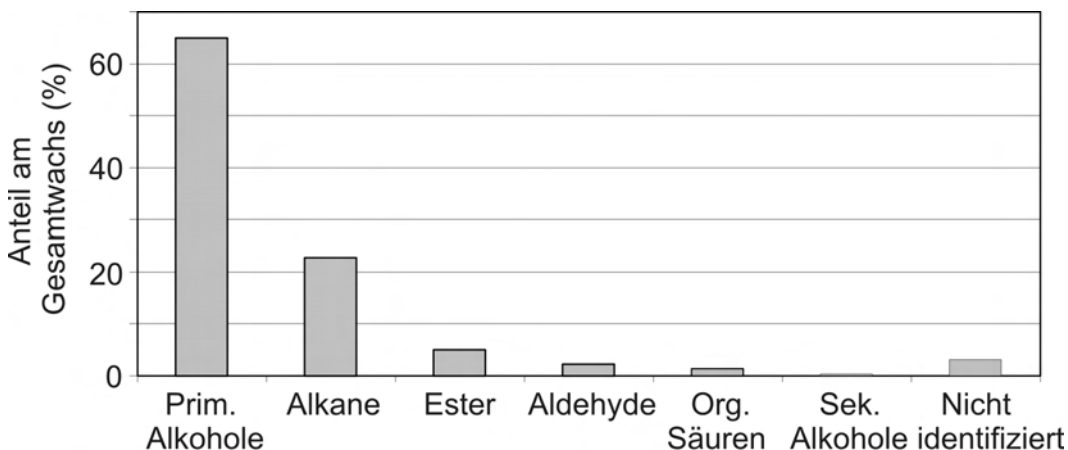


Abbildung 3.31: Ergebnisse der GC-MS-Analysen von Orangenblattwachs (BOS), mittels Cryomethode abgehoben

Das Verteilungsmuster der vorhandenen Stoffklassen ähnelt dem der Blattoberseite

des Zitronenwachses. Primäre Alkohole dominieren deutlich mit 72,71 % vor den Alkanen (16,16 %) und den Estern (3,39 %). Organischen Säuren (2,90 %) bilden mit den Aldehyden (1,73 %) und den sekundären Alkoholen (0,63 %) die Minderheit. Der Anteil der nicht identifizierten Substanzen liegt bei 2,49 %.

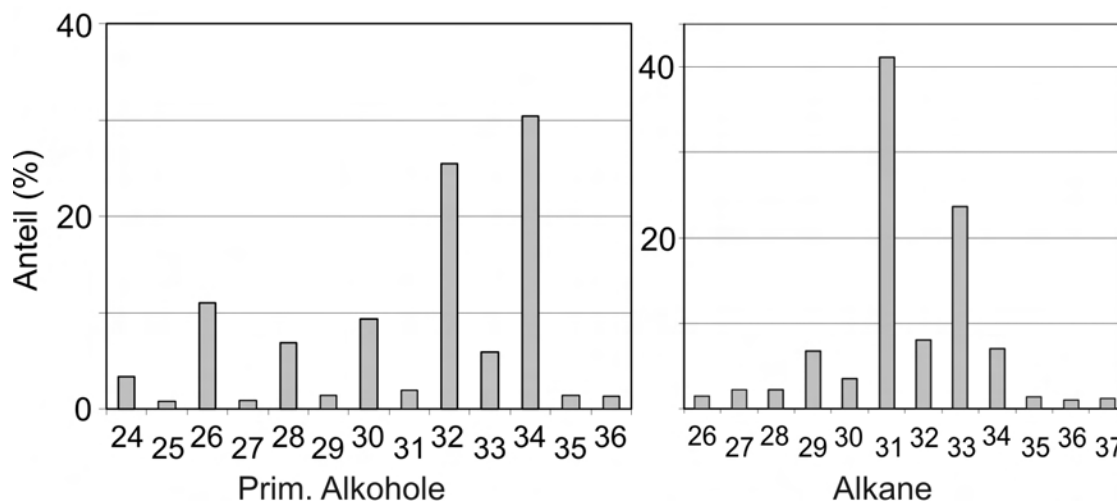


Abbildung 3.32: Anteile der primären Alkohole und Alkane der GC-MS-Analysen der mittels Cryomethode isolierten Wachse von Orangenblättern

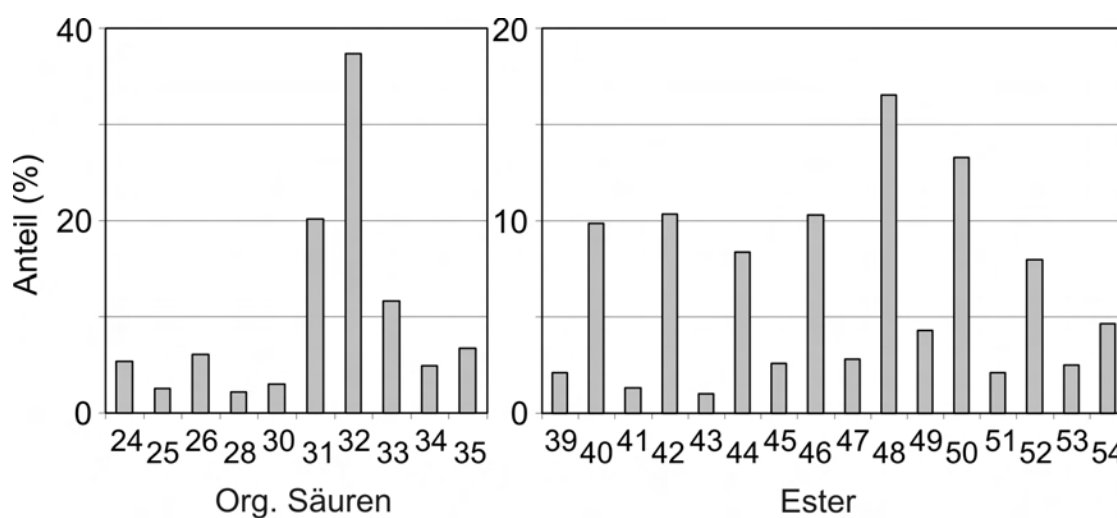


Abbildung 3.33: Anteile der organischen Säuren und Ester der GC-MS-Analysen der mittels Cryomethode isolierten Wachse von Orangenblättern

Geradzahlige Kettenlängen dominieren bei den primären Alkoholen. So sind  $C_{34}$  (30,41 %),  $C_{32}$  (25,49 %),  $C_{26}$  (11,01 %),  $C_{30}$  (9,31 %) und  $C_{28}$  (6,85 %) am stärksten vertreten. Die restlichen Längen, außer  $C_{33}$  (5,94 %), spielen mit weniger als 4 % eine untergeordnete Rolle. Bei den Alkanen dominieren wiederum die ungeradzahligen Längen. Mit 41,12 % bildet das Hentriacontan gefolgt von  $C_{33}$  (23,71 %),  $C_{32}$  (8,07 %),  $C_{34}$  (7,08 %) und  $C_{29}$  (6,81 %) den Hauptteil der Alkane. Alle anderen Kettenlängen zwischen  $C_{26}$  und  $C_{37}$  sind nur in einem geringen Maß ( $< 4$  %) vorhanden. Die Vielzahl der organischen Säuren ist groß. Die drei am stärksten vorhandenen Kettenlängen sind  $C_{32}$  (37,32 %),  $C_{31}$  (20,14 %) und  $C_{33}$  (11,63 %), die restlichen Längen sind jeweils mit maximal 7 % vertreten. Auch die Vielzahl der Ester ist groß, von  $C_{39}$  bis  $C_{54}$  sind alle vertreten, wobei hier die geradzahligen Kettenlängen dominieren. Die Reihenfolge wird von  $C_{48}$  (16,51 %) angeführt, gefolgt von  $C_{50}$  (13,28 %),  $C_{42}$  (10,34 %),  $C_{46}$  (10,28 %),  $C_{40}$  (9,83 %),  $C_{44}$  (8,35 %) und  $C_{52}$  (7,94 %). Der Anteil der übrigen Kettenlängen liegt jeweils unter 5 %.

## 3.4 Dreikantige Stäbchen/Fäden

### 3.4.1 *Hebe pinguifolia* L. - Strauchveronika

Als Vertreter der Stäbchenwachse wurde *Hebe pinguifolia* L. ausgewählt. Durch die geringe Größe der Blätter war es bei der Verwendung der drei selektiven Methoden kaum möglich, eine Trennung zwischen der Blattoberseite und -unterseite durchzuführen, z.B. haben sich bei der Cryomethode einige Stücke im Einbettungsmittel Triethylenglycol gedreht und man erhielt immer ein Wachsgemisch beider Seiten, und bei der Klebermethode umschloss der Kleber immer das ganze Blatt. Abbildung 3.34 zeigt die Ergebnisse der Wachsabhebung.



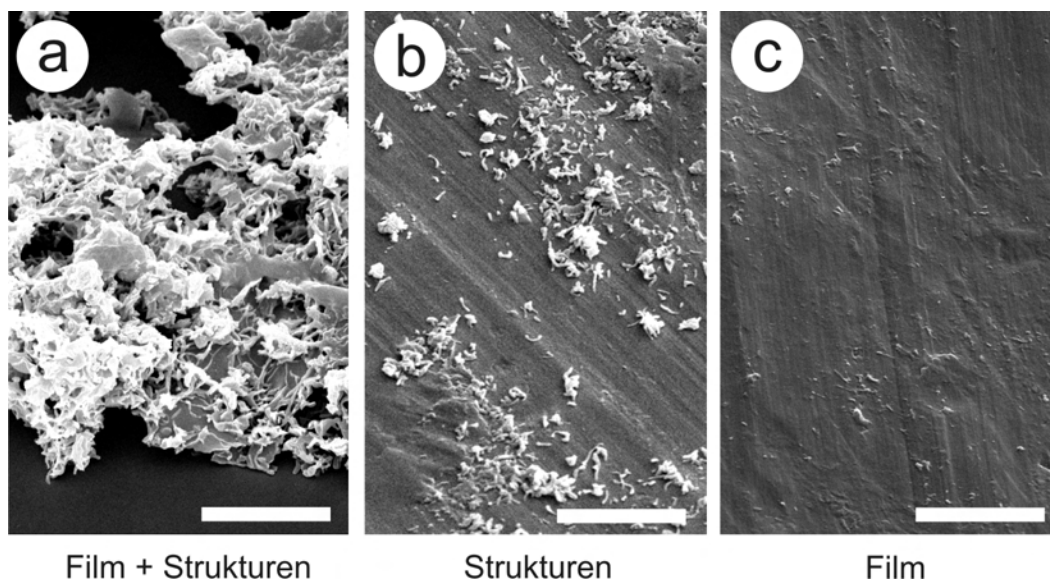


Abbildung 3.34: REM-Bilder der mit Wachs bedeckten Alufolie: a) Cryomethode; b) Stempelmethod; c) Klebermethod; Skalen:  $8\ \mu m$

Die Ergebnisse der massenspektrometrischen Analyse der Cryofraktion der Blätter von *Hebe pinguifolia* L. sind in Abbildung 3.35 zu sehen.

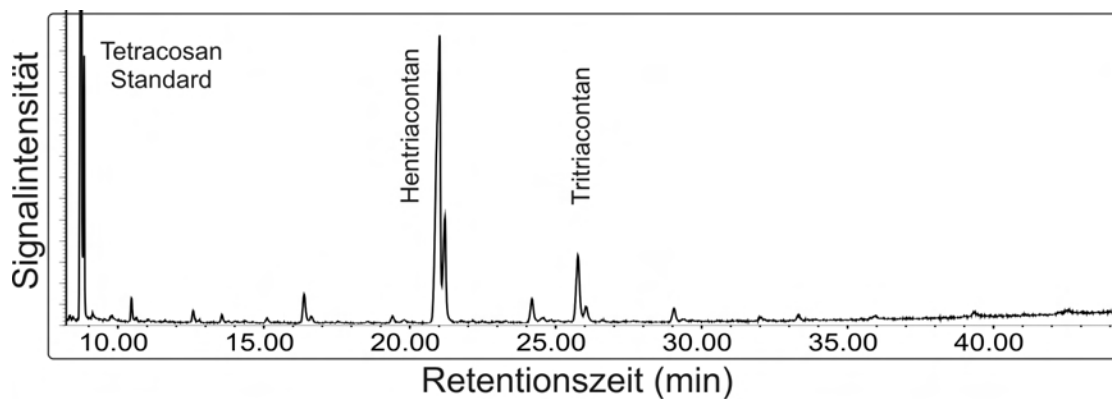


Abbildung 3.35: Ergebnisse der Massenspektrometrie von Strauchveronikablattwachs

Abbildung 3.36 zeigt die Auswertung der Kombination des GC- und MS-Spektrums des Blattwachses von *Hebe pinguifolia* L.

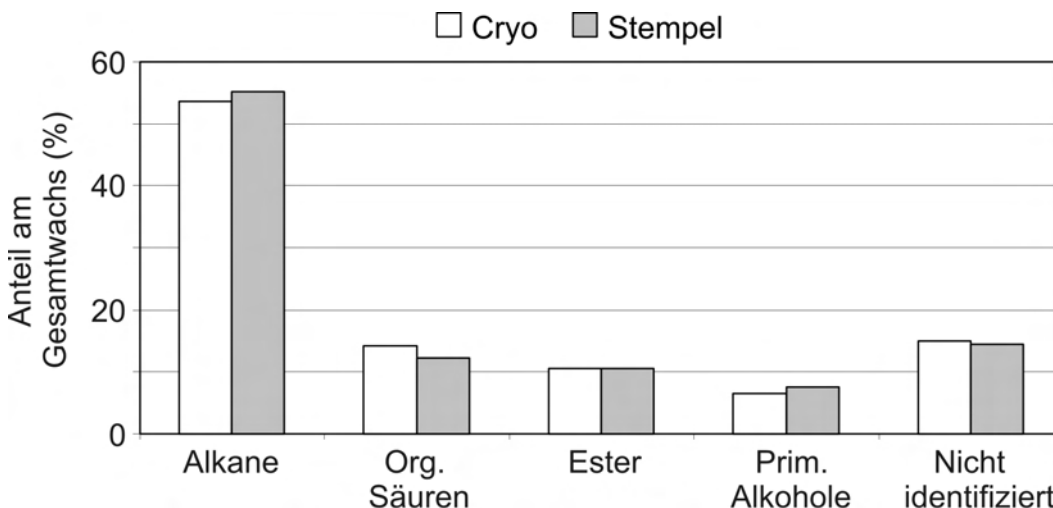


Abbildung 3.36: Ergebnisse der GC-MS-Analysen der Cryo- (weiß) und Stempelmethode (grau) von Strauchveronikablattwachs, welches auf der Alufolie haften blieb; die Zusammensetzung ist nach Klassen aufgelistet (methodenabhängig)

Die dominierende Stoffklasse bei *Hebe pinguifolia* L. sind die Alkane mit einem Anteil von 53,62 % (Cryo) und 55,17 % (Stempel). Organische Säuren sind zu 14,20 % (Cryo) und 12,21 % (Stempel) vertreten. Ester machen in der Cryofraktion einen Anteil von 10,61 % und in der Stempelmethode einen von 10,62 % aus. Die primären Alkohole sind nur zu 6,53 % (Cryo) und 7,53 % (Stempel) vertreten. Der Anteil der nicht identifizierten Substanzen liegt in der Cryofraktion bei 15,05 % und in der Stempelfraktion bei 14,47 %.

In der Verteilung der Homologen der Alkane zeigt sich, dass die ungeradzahligen Längen  $C_{31}$  (Cr: 69,65 %; St: 67,24 %),  $C_{33}$  (Cr: 17,20 %; St: 18,29 %) und  $C_{29}$  (Cr: 5,89 %; St: 5,27 %) dominieren. Die restlichen Alkane von  $C_{25}$  bis  $C_{34}$  haben jeweils einen Anteil von unter 2,5 %. Die Verteilung der Homologen der organischen Säuren ist einheitlicher, allerdings dominieren hier die geradzahligen Längen  $C_{28}$  (Cr: 31,80 %; St: 29,74 %),  $C_{30}$  (Cr: 23,97 %; St: 16,99 %),  $C_{26}$  (Cr: 13,76 %; St: 17,74 %),  $C_{32}$  (Cr: 9,54 %; St: 6,75 %) und  $C_{24}$  (Cr: 7,27 %; St: 12,86 %). Die Reihenfolge der

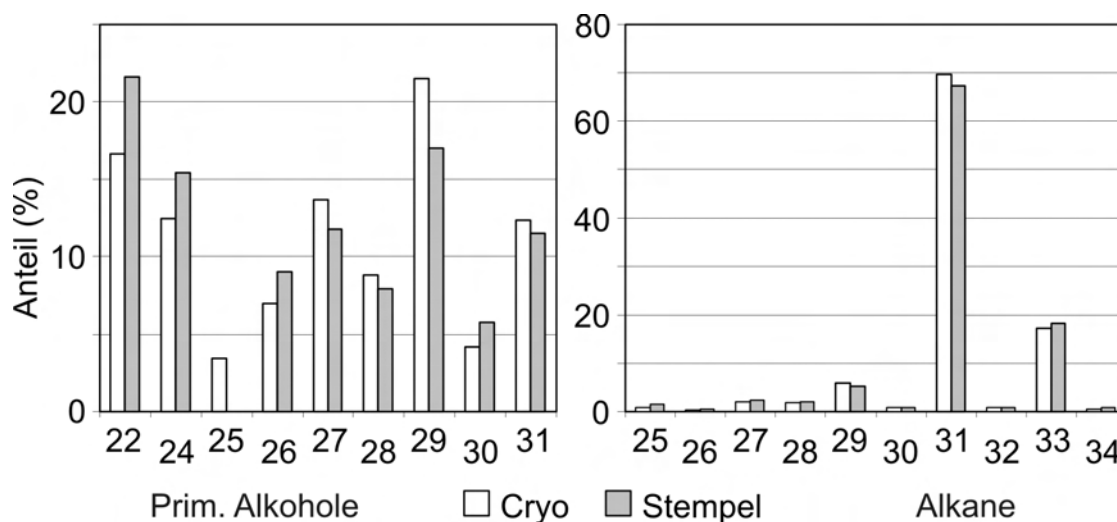


Abbildung 3.37: Anteile der Alkane und prim. Alkohole der GC-MS-Analysen der mittels Cryo- (weiß) und Stempelmethode (grau) isolierten Wachse von Strauchveronikablättern

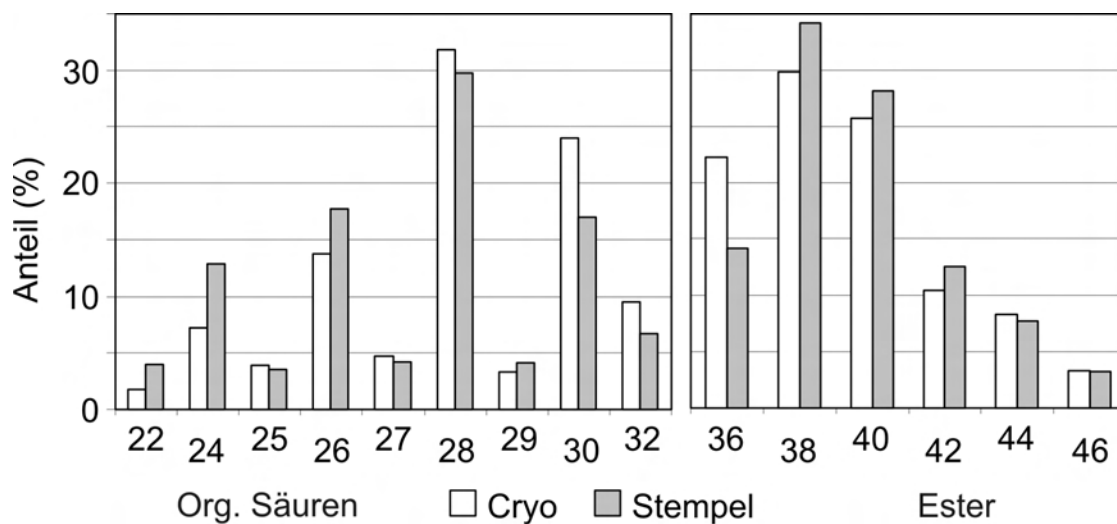


Abbildung 3.38: Anteile der org. Säuren und Ester der GC-MS-Analysen der mittels Cryo- (weiß) und Stempelmethode (grau) isolierten Wachse von Strauchveronikablättern

prozentualen Anteile der Kettenlängen zwischen Cryo- und Stempelmethode ist, wie man es an den Angaben sehen kann, bei den beiden Methoden nicht übereinstimmend. Die restlichen Kettenlängen ( $C_{22}$ ,  $C_{25}$ ,  $C_{27}$  und  $C_{29}$ ) sind nur in geringen Mengen (unter 5 %) vorhanden. In der Cryofraktion sind alle Homologen der Alkohole von  $C_{22}$  bis  $C_{31}$  mit Ausnahme von  $C_{23}$  vorhanden, in der Stempelfraktion fehlt zusätzlich das  $C_{25}$ . Das  $C_{29}$  dominiert in der Cryofraktion, die anderen Kettenlängen sind mit etwa 3,5 bis 17,5 % vertreten. In der Stempelfraktion ist das  $C_{22}$  die Hauptlänge, die anderen Homologen liegen zwischen 5,75 und 17 % verteilt. Bei den Estern sind nur geradzahlige identifiziert worden. Die Fraktion enthält folgende Ester, in der Reihenfolge ihrer Häufigkeit:  $C_{38}$  (Cr: 29,86 %; St: 34,15 %),  $C_{40}$  (Cr: 25,74 %; St: 28,18 %),  $C_{36}$  (Cr: 22,27 %; St: 14,13 %),  $C_{42}$  (Cr: 10,49 %; St: 15,55 %),  $C_{44}$  (Cr: 8,29 %; St: 7,75 %) und  $C_{46}$  (Cr: 3,34 %; St: 3,23 %).

Die Vielzahl der erhaltenen Ergebnisse wird in Tabelle 3.4 in Kurzform zusammengefasst. Neben den Pflanzennamen sind die Wachsgewinnungsmethoden (Cryomethode: Cr und Chloroformextraktion: Cl), die dominierenden Stoffklassen und die entsprechenden Hauptkomponenten mit ihrer Kettenlänge angegeben. Durch die Buchstaben u (ungerade) und g (gerade) wird die Anzahl der Kohlenstoffatome der Molekülketten bezeichnet.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Alkohole die dominierende Stoffklasse darstellen. Mit Ausnahme von Strauchveronika und Porree treten sie in unterschiedlichen Anteilen als Moleküle mit geradzahliger Kettenlänge auf. Bei Porree übernimmt diese Rolle das ungeradzahlige Keton Hentriacontan-16-on. Zudem lässt sich feststellen, dass sich, unabhängig von der Wachsstruktur und Pflanze, die Komponenten und die Stoffklassen im Ganzen stark, wenn auch in unterschiedlichen Anteilen, ähneln. Besonders zu erwähnen ist die Tatsache der übereinstimmenden Kettenlängen innerhalb einzelner Stoffklassen.

Tabelle 3.4: Zusammenfassung und Übersicht der wichtigsten Wachskomponenten (15 %, oder eindeutig strukturbestimmend) nach Pflanze, Wachstyp, Stoffklasse und Kettenlängen (g: hauptsächlich oder nur gradzahlige, u: überwiegend oder nur ungradzahlige Längen) sortiert. Aus Platzgründen sind die eingebürgerten Namen und Abkürzungen angegeben, zudem ist nur die Hauptwachsgewinnungsmethode angegeben (Cryomethode: Cr, Chloroformextraktion: Cl; BOS: Blattoberseite, BUS: Blattunterseite)

Pflanze und Wachsgewinnungsmethode	Wachstyp	Stoffklassen (Anteil in %)	Komponenten
Porree (Cl)	Schuppen	Ketone (55 %) Ester (17,7 %) Alkane (10,6 %)	Hentriacontan-16-on $C_{38}$ - $C_{48}$ g $C_{25}$ - $C_{33}$ u
Schwertlilie (Cr)	Schuppen	prim. Alkohole (53,7 %) Aldehyde (19,3 %)	$C_{26}$ - $C_{32}$ g $C_{26}$ - $C_{30}$ g
Indigolupine (Cr)	Schuppen	prim. Alkohole (53,7 %) Aldehyde (19,3 %)	$C_{24}$ - $C_{34}$ g $C_{25}$ - $C_{34}$ g
Kapuzinerkresse (Cr)	Röhrchen	sek. Alkohole (56,4 %) Diole (19,7 %)	Nonacosan-10-ol Nonacosan-4,10-diol
Wiesenraute (Cr)	Röhrchen	sek. Alkohole (57,9 %) Diole (8 %)	Nonacosan-10-ol Verschiedene Diole u
Zitrone (Cr)	BOS Kruste	prim. Alkohole (65 %) Alkane (22,7 %)	$C_{24}$ - $C_{36}$ g $C_{27}$ - $C_{38}$ u
		prim. Alkohole (22,4 %) Alkane (71,3 %)	$C_{26}$ - $C_{36}$ g $C_{28}$ - $C_{37}$ u
	BUS Film		
Orange (Cr)	BOS Kruste	prim. Alkohole (72,7 %) Alkane (16,2 %)	$C_{24}$ - $C_{36}$ g $C_{26}$ - $C_{37}$ u
		Alkane (53,6 %)	$C_{25}$ - $C_{34}$ u
Strauchveronika (Cr)	Stäbchen	Alkane (53,6 %)	$C_{25}$ - $C_{34}$ u

### 3.5 Thermische Untersuchungen mittels Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Die DSC ist eine Methode zur Messung der isotherm aufgenommenen oder abgegebenen Wärmemenge einer Probe im Vergleich zu einer Referenzprobe. Diese Methode wurde genutzt, um die Schmelzpunkte einiger Wachse zu ermitteln und um nachzuweisen, ob diese Wachse beim Aufheizen/Abkühlen metastabile Phasen bilden. Dazu wurden zwei Reinkomponenten gewählt, das Alkan Tetracosan und das Keton Hentriacontan-16-on, welches, wie zuvor gezeigt, die Hauptkomponente von Porreewachs ist. Als Gesamtwachs wurde auch das Porreewachs und Kapuzinerkressewachs analysiert. Beide Gemische wurden zuvor mittels Chloroform extrahiert und besitzen die im oberen Kapitel gezeigte Chemie. Während die Messung von Tetracosan nur einmal durchgeführt wurde, da es sich um eine synthetische Komponente handelte, die im Wachs kaum vorkommt, wurden von den restlichen Proben zwei Durchgänge ohne Probenwechsel durchgeführt. Details des Messverfahrens sind im Kapitel 2.6.3 beschrieben. Die hier gezeigten Graphen stellen die Ausschnitte der Regionen dar, in welchen die Phasenumwandlung, d.h. eine Schmelze oder Erstarrung, stattfindet. Die genannten Wärmemengen beruhen auf Extrapolation der Peakflanken und nachfolgender Flächenberechnung, wie es im ersten Graphen durch das eingezeichnete graue Dreieck bei Peak A zu sehen ist (Abbildung 3.39).

Abbildung 3.39 zeigt die Messergebnisse von Tetracosan an. Die aufgenommene Wärmemenge (endotherm) entspricht der unteren Kurve, die abgegebene Wärmemenge (exotherm) der oberen Kurve im Graphen. Durch die Auswertung erhält man die Starttemperatur eines Umwandlungsprozesses und durch die Peakfläche die aufgenommene oder abgegebene Wärmemenge pro Gramm Masse ( $J/g$ ). Bei Tetracosan startet der Schmelzprozess bei errechneten  $48,6^{\circ}\text{C}$  (Fläche des Heizpeaks A:  $-228,5 J/g$ ). Der Erstarrungsprozess ist in zwei Peaks aufgespalten, der erste fängt bei  $47,8^{\circ}\text{C}$  (Fläche Peak B:  $143,8 J/g$ ), der zweite bei  $39,8^{\circ}\text{C}$  (Fläche Peak C:  $73,46 J/g$ ) an. Diese Aufspaltung spricht für eine metastabile Phase, die der Kohlenwasserstoff passiert. Die

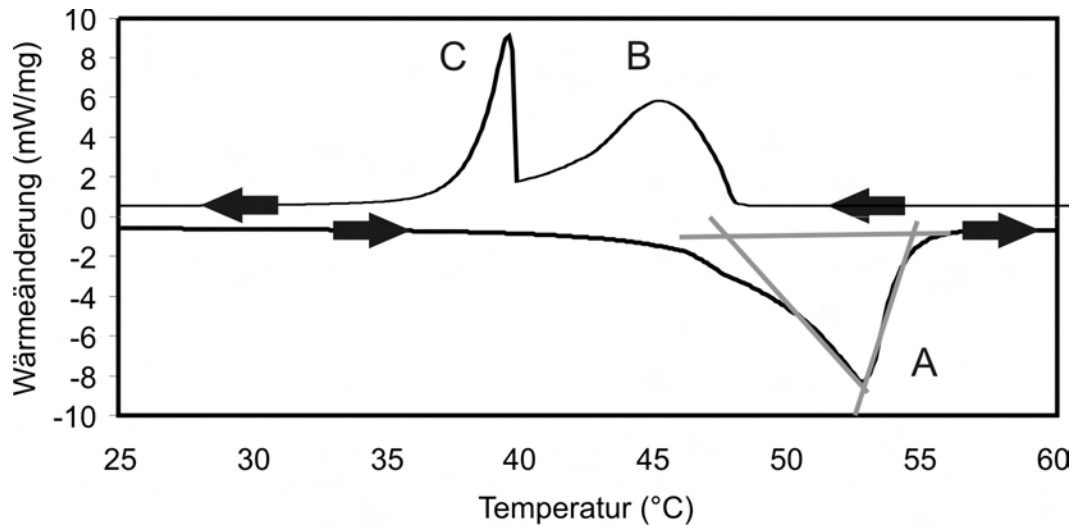


Abbildung 3.39: DSC von Tetracosan ( $C_{24}H_{50}$ ) mit Beispiel einer Wärmemengenbestimmung durch Ermittlung der Fläche von Peak A (graues Dreieck), obere Linie: Kühlkurve, untere Linie: Heizkurve

Summe der Peakflächen B und C stimmt im Rahmen der Messungenauigkeit und Fehlertoleranz gut mit Peakfläche A überein (exotherm (A):  $221,5 \text{ J/g}$  zu endotherm (B und C):  $-228,5 \text{ J/g}$ ).

Abbildung 3.40 zeigt die Ergebnisse der Messung an Hentriacontan-16-on. Bei diesem Experiment wurde der Heiz- und Kühlvorgang zweifach mit derselben Probe ausgeführt. Beim ersten Heizen (schwarze Kurve) ergab sich eine Phasenumwandlungstemperatur von  $83,5^\circ\text{C}$  (Fläche A:  $-231,7 \text{ J/g}$ ), beim zweiten (graue Kurve) eine Temperatur von  $80,9^\circ\text{C}$  (Fläche A:  $-223,3 \text{ J/g}$ ). Die entsprechenden Kurven bei der Abkühlung weisen folgende Werte auf: 1. Abkühlung B:  $77,9^\circ\text{C}$  und  $221,2 \text{ J/g}$ ; 2. Abkühlung B:  $77,7^\circ\text{C}$  und  $220 \text{ J/g}$ . Beim ersten Heizen sind die Werte leicht gegenüber dem zweiten Heizen erhöht, die Abkühlpeaks sind hingegen deckungsgleich.

Die Abbildung 3.41 zeigt das Gesamtwachs von Porree, in dem Hentriacontan-16-on die Hauptkomponente ist. Da es sich um ein Gemisch vieler Komponenten handelt, sind auch mehrere Peaks zu sehen. Der Hauptpeak C (1. Heizen:  $79,2^\circ\text{C}$  und  $-111,3 \text{ J/g}$ ; 2. Heizen:  $77,6^\circ\text{C}$  und  $-131,6 \text{ J/g}$ ) wird aufgrund der Position und Größe dem

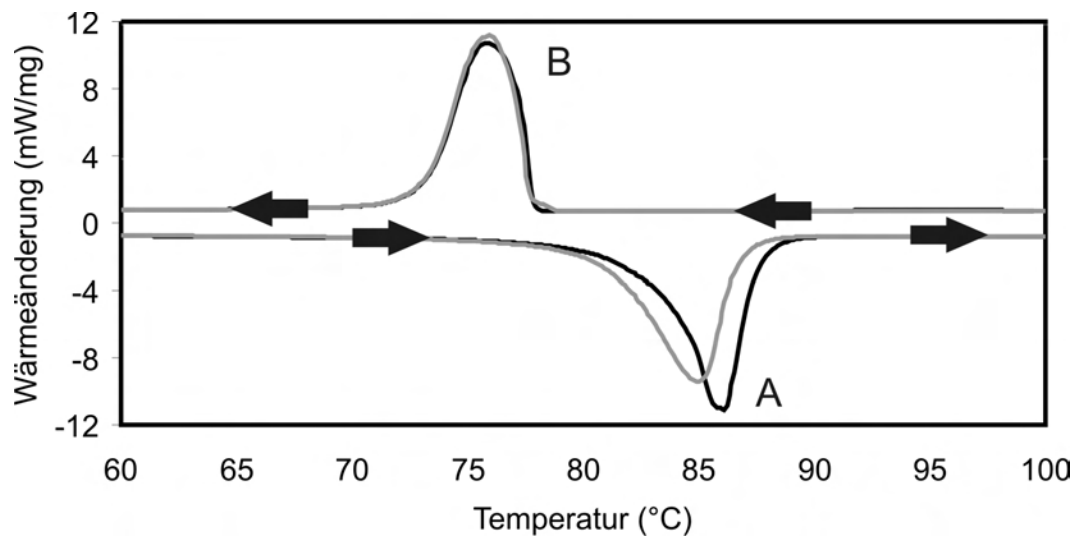


Abbildung 3.40: DSC von Hentriacontan-16-on ( $C_{31}H_{62}O$ ), obere Linien: Kühlkurven, untere Linien: Heizkurven

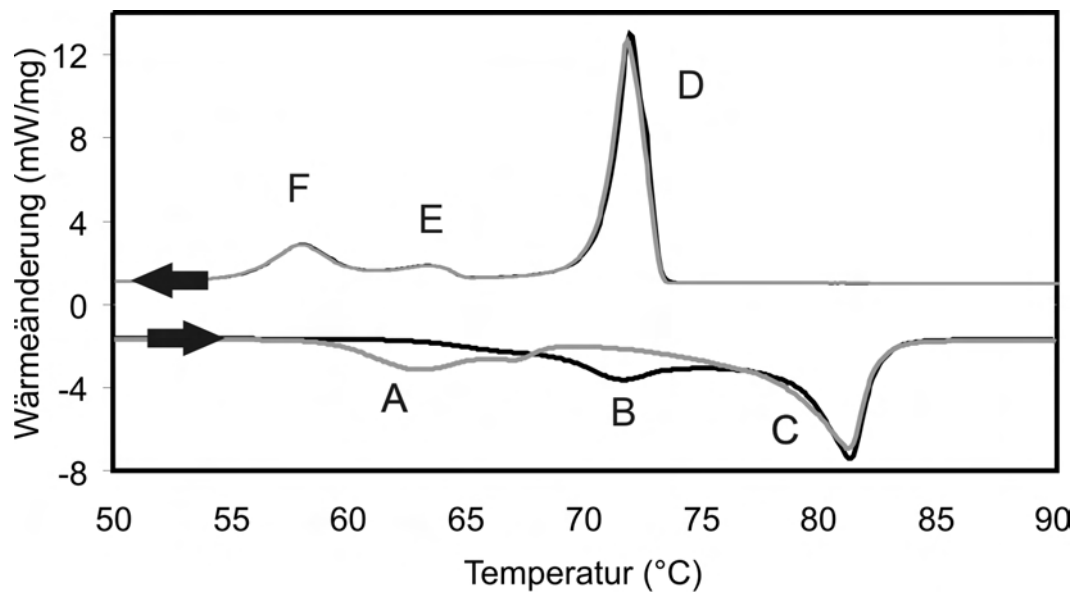


Abbildung 3.41: DSC von Paraffin, obere Linien: Kühlkurven, untere Linien: Heizkurven



Hentriacontan-16-on zugeordnet. Leider ist dies nicht exakt bestimmbar, da er sich nicht auf der gleichen Position befindet wie bei der Reinsubstanz. Durch das erste Heizen finden zudem Umordnungen statt, die den kleinen Doppelpeak B von  $67,7^{\circ}\text{C}$  ( $-87,03 \text{ J/g}$ ) nach A  $59,2^{\circ}\text{C}$  ( $-56,2 \text{ J/g}$ ) verschieben. Beim Abkühlen sind wiederum alle Peaks deckungsgleich. Der große Peak D bei  $73,2^{\circ}\text{C}$  ( $132,5 \text{ J/g}$ ) zeigt den Beginn des Erstarrens des Waxes an, der kleine Doppelpeak (E und F) bei  $64,9^{\circ}\text{C}$  ( $48,09 \text{ J/g}$ ) seinen Endpunkt. In der Summe ergibt sich, dass die gesamten Peakflächen sich ähneln: 1.Heizen (B und C):  $-191,4 \text{ J/g}$ ; 2.Heizen (A und C):  $-189,3 \text{ J/g}$ ; 1. und 2. Kühlen (D, E und F):  $187,2 \text{ J/g}$ . In diesem Schema sind keine Zwischenphasen erkennbar.

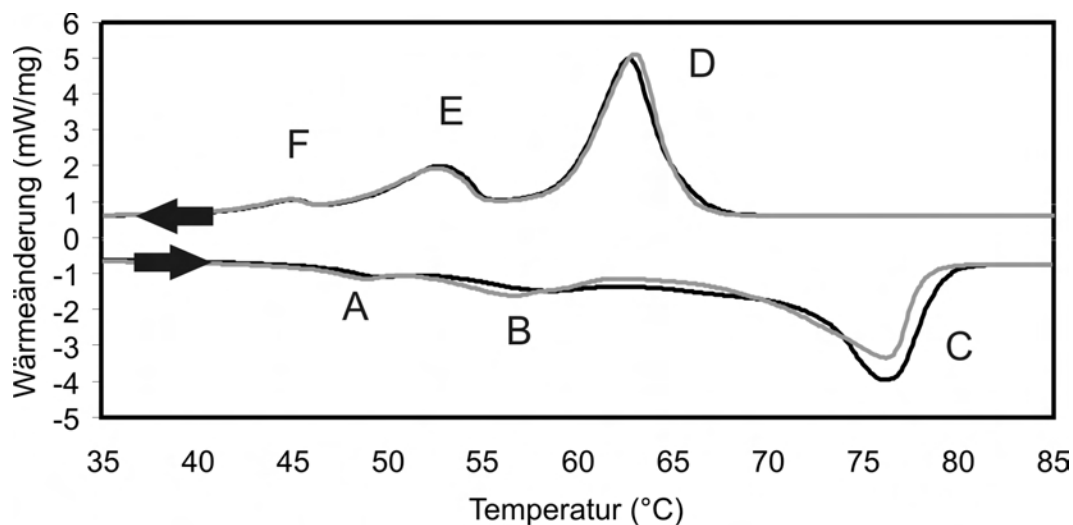


Abbildung 3.42: DSC von *Tropaeolum majus* L. Wachs, obere Linien: Kühlkurven, untere Linien: Heizkurven

Die vierte und letzte untersuchte Wachsprobe war die von *Tropaeolum majus* L. Abbildung 3.42 stellt die Ergebnisse der DSC vor. Das Spektrum zeigt einen ähnlichen Verlauf wie das von Porreewachs an. Die Phasenumwandlung beginnt beim ersten Heizen (A) bei  $46,3^{\circ}\text{C}$  ( $-13,24 \text{ J/g}$ ), beim zweiten Heizen schon bei  $45,3^{\circ}\text{C}$  ( $-14,5 \text{ J/g}$ ). Der mittlere Peak B beginnt in beiden Fällen bei  $53,1^{\circ}\text{C}$  (1.Heizen:  $-17,21 \text{ J/g}$ ; 2.Heizen:  $-18,62 \text{ J/g}$ ). Beim Hauptpeak C startet der Schmelzvorgang bei  $72,8^{\circ}\text{C}$  (beim 2. Heizen bei  $68,9^{\circ}\text{C}$ ) und die Peakfläche ist deutlich unterschiedlich zwischen den beiden

Heizvorgängen (1. Heizen (schwarze Linie):  $-143,9 \text{ J/g}$ ; 2.Heizen (graue Linie):  $-126,3 \text{ J/g}$ ). Die Peaks bei der Abkühlung sind wiederum nahezu gleich. Die Erstarrung (D) beginnt bei  $65,4^\circ\text{C}$  ( $113,9 \text{ J/g}$ ) bzw. beim zweiten Abkühlen bei  $65,5^\circ\text{C}$  ( $112,8 \text{ J/g}$ ). Die mittleren Peaks (E und F) beginnen bei  $55,0^\circ\text{C}$  ( $20,87 \text{ J/g}$ ) bzw  $54,8^\circ\text{C}$  ( $20,71 \text{ J/g}$ ). Der letzte Erstarrungsvorgang beginnt bei  $46,1^\circ\text{C}$  ( $12,84 \text{ J/g}$ ) bzw bei  $46,0^\circ\text{C}$  ( $14,87 \text{ J/g}$ ). In der Gesamtsumme liegen in der Abkühlphase die Peakflächen mit  $177,7 \text{ J/g}$  (1.Kühlung) und  $176,6 \text{ J/g}$  (2.Kühlung) nah beieinander. Die Flächen der Peaks der Heizphase sind hingegen mit  $-199,1 \text{ J/g}$  (1.Heizen) und  $-177,7 \text{ J/g}$  (2.Heizen) verschieden. Auch hier muss das Wachs zuerst geschmolzen werden, bevor die Reversibilität in Kraft tritt.

### 3.6 Diskussion 3.Kapitel

Die bisher vorgestellten Ergebnisse werden in diesem Abschnitt der Dissertation diskutiert und, soweit möglich, Ergebnissen aus der Literatur gegenübergestellt. Zuerst soll das Thema der Kristallinität der Wachse, im Anschluss das der Wachschemie besprochen werden. Die Ergebnisse der DSC werden am Kapitelende diskutiert.

Mittels der Röntgenbeugung konnte für die hier als Beispiel ausgesuchten Wachstrukturen nachgewiesen werden, dass epikutikulare Wachse kristallin sind. 1925 konnten MÜLLER und SAVILLE die ersten Zusammenhänge zwischen Kohlenstoffanzahl im Molekül und der Position der Signale im „long spacing“-Bereich nachweisen, deren Auftragung gegeneinander ergibt einen linearen Zusammenhang<sup>77</sup>. Und obwohl KREGER 1948<sup>65</sup> die Röntgenbeugung für erste Experimente mit pflanzlichen Wachsen nutzte und der Nachweis der Kristallinität unter anderem auch MALKIN et al. (1952<sup>71</sup>) für einzelne Wachskomponenten und MAZLIAK (1968<sup>73</sup>) für mehrere Gesamtwachse gelang, hält sich noch immer in der Wissenschaft der Gedanke eines amorphen oder wenigstens teilamorphen Charakters. Die Ergebnisse dieser Arbeit widerlegen diesen Irrglauben wiederum.

Die Messergebnisse der Wachsschuppen von Porree zeigen zwar nur schwache, aber

dennoch eindeutige Signale, die für ein orthorhombisches Gitter sprechen. Die beiden Peaks im „short spacing“-Bereich bei 4,138 und 3,858 Å sprechen für diese Anordnung, aber auch die hexagonale Anordnung ist hier möglich, da diese sich ebenfalls bei 4,138 Å zeigt. Demzufolge ist von einem Zusammenspiel der beiden Hauptkomponenten Hentriacontan-16-on (hexagonal) und Octacosan-1-ol (orthorhombisch) auszugehen. Octacosanol ist für die Peaks im „short spacing“-Bereich verantwortlich, auch wenn der zweite Peak bei 3,858 Å leicht verschoben ist. Reines Octacosanol ruft, im Gegensatz zu dem hier verwendeten Porreewachs, ein Signal bei 3,73 Å hervor. Diese Verschiebung des zweiten Signals kann auch auf das Vorhandensein von Carbonsäuren beruhen, welche laut MALKIN<sup>71</sup> et al. mittelstarke Peaks bei 3,86 Å zeigen. Eindeutiger zuzuordnen sind die Signale im „long spacing“-Bereich. Das Fehlen jedes zweiten Peaks ist der zentralen Position der Ketogruppe im Hentriacontan-16-on ( $C_{31}$ ) zu verdanken. Zwei aneinandergelagerte Atome oder funktionelle Gruppen mit hoher Elektronendichte, in diesem Fall die Ketogruppe mit dem Sauerstoffatom, löschen, abhängig von ihrer Position in der Kohlenstoffkette, bestimmte Signale aus (MÜLLER et al. 1925<sup>77</sup>, SHEARER et al. 1925<sup>104</sup>). Während hier jede zweite Ordnung fehlt, ist es bei den gleich im Anschluss diskutierten Wachsröhrchen mit der Hauptkomponente Nonacosan-10-ol jedes dritte Signal, beruhend auf der Position der Hydroxygruppe in der Kette.

Die Kristallstruktur der Wachsröhrchen ist durch die höhere Signalanzahl geringfügig komplizierter zu deuten. Die Peaks im „short spacing“-Bereich bei 4,631, 3,987 und 3,834 Å zeigen triklinen, die bei 4,235 und 3,733 Å orthorhombischen Charakter. Nonacosan-10-ol als Hauptkomponente ist für die triklinen Signale verantwortlich, was schon ENSIKAT et al. 2006<sup>26</sup> nachwies, indem diese extrahierte Einzelkomponente aus *Tropaeolum majus* Wachs mit dem Gesamtwachs, wie in dieser Arbeit, verglichen wurde. Während reines Nonacosanol nur triklinen Charakter offenbarte, sind die beiden anderen Peaks primären Alkoholen oder auch den schwächer vertretenen Alkanen zuzuordnen. Andere Röhrchenwachse, wie von *Thalictrum flavum ssp. glaucum* L. zeigen, dank einer ähnlichen chemischen Zusammensetzung, gleiche Gitterparameter

(ENSIKAT 2006<sup>26</sup>). Die Lücken im „long spacing“-Bereich zeigen eindeutig Reflexionen von Nonacosanol. Das Molekül weist eine Hydroxygruppe auf, welche, ähnlich der Ketogruppe, Peaks bestimmter Ordnung ausblendet. Da sich die funktionelle Gruppe bei 1/3 der Kettenlänge befindet, fehlt jedes dritte Signal.

Aufgrund der nahezu identischen chemischen Zusammensetzung der epikutikularen Blattwache von Zitrone und Orange wurde das mittels Cryomethode isolierte Wachs der Zitrone kristallographisch analysiert. Die Methode ermöglichte eine separate Analyse des Wachses der Blattober- und unterseite. Ein weiterer Grund für die Wahl beider Seiten war die starke Verschmutzung der Blattoberseite. Staub und andere Schmutzpartikel lagerten sich im Wachs ab und färbten es gräulich. Eine Behandlung im Ultraschallbad zeigte keinen Erfolg bei der Entfernung. Die Blattunterseite war hingegen nahezu schmutzfrei. Diese Tatsache ist auch in beiden Analysen sichtbar. Während beide Blattseiten im „short spacing“-Bereich die typischen Peaks für orthorhombische Symmetrie bei 4,226 (BOS) bzw. 4,222 (BUS) und 3,828 bzw. 3,830 Å in unterschiedlicher Stärke vorweisen, sind deutliche Unterschiede im „long spacing“-Bereich sichtbar. Das Wachs der Blattoberseite weist zwar drei Signale in dieser Region auf, diese sind aber keiner Symmetrie zuzuordnen, da jegliche Peaks unter 10° fehlen. Dies spricht für die im Wachs eingelagerte Fremdsubstanzen, die durch das Ultraschallbad zuvor nicht entfernt werden konnten. Auch der Peak bei 3,467 Å kann keiner bekannten Symmetrie zugeordnet werden (LARSSON et al. 1994<sup>69</sup>). Dieses Signal ist auch beim Wachs der Blattunterseite, auch wenn deutlich schwächer, sichtbar. Jedoch sind hier Reflexionen im „long spacing“-Bereich sichtbar, welche im Wachs der Blattoberseite fehlen. Dies spricht für eine kristalline Ordnung der Moleküle, ihre geringe Intensität, wie auch der beiden Peaks bei 4,222 und 3,830 Å, könnte auf den hohen Anteil an Alkanen zurückzuführen sein.

ENSIKAT et al. bewiesen 2006 mit Experimenten an Röhrchenwachs, dass diese beiden Signale der orthorhombischen Ordnung definitiv vom Wachsfilm stammen und somit den kristallinen Charakter bestätigen. Die Autoren trennten von mechanisch isoliertem epikutikularem Gesamtwachs von *Thalictrum flavum ssp. glaucum* L. den

basalen Film und Röhrchen und analysierten den Film. Die für Röhrchen typischen Signale bei 4,54 Å verschwinden und nur die gleichen, wie hier beim Wachsfilm des Zitronenblattes, bei 4,13 und 3,73 Å bleiben übrig (ENSIKAT et al. 2006<sup>26</sup>). Die Analyse des Zitronenblattwachses der Oberseite zeigt keine Peaks im Bereich kleiner Winkel, was zum Teil an den Verschmutzungen liegen könnte. Dennoch ist davon auszugehen, dass es sich auch hierbei um eine kristalline Symmetrie handelt, wenn auch mit starker Unordnung im Gitter. Die Röntgenbeugungsexperimente der restlichen Wachsstrukturen verliefen erfolgreicher, d.h. sie lieferten eindeutigere Ergebnisse bezüglich der Kristallinität der epikutikularen Wachse.

Das zweite Hauptthema dieses Kapitels ist die chemische Zusammensetzung der epikutikularen Wachsstrukturen. Hierbei sollen gleiche Strukturtypen (Schuppen, Röhrchen, Filme und Stäbchen) miteinander verglichen und Gemeinsamkeiten und Unterschiede aufgezeigt werden. Als ein wichtiger Punkt der Analyse der Wachskemie sei zu erwähnen, dass diese Experimente als eine Art „Momentaufnahme“ zu sehen sind. Während der Blattontogenese ändert sich nämlich die Zusammensetzung der Wachse, was zu Folge haben kann, dass sich sogar die Wachsmorphologie ändern kann (SCHNEIDER et al. 1990<sup>100</sup>).

Die chemische Zusammensetzung der Wachsschuppen wurde von drei verschiedenen Pflanzenarten, *Allium porrum* L., *Iris germanica* L. und *Baptisia australis* L., ermittelt. Dabei stellte sich heraus, dass die Schuppen von Iris und Indigolupine auf Basis von Octacosanol und die von Porree auf Basis von Hentriacontan-16-on gebildet sind. Hierbei soll ein Vergleich von ausgesuchten Stoffklassen und Wachsgewinnungsmethoden Gemeinsamkeiten und Unterschiede in der Chemie, bezogen auf eine bestimmte Wachsstruktur, aufzeigen.

Als Vergleichsstoffklasse bei Schuppen wurden primäre Alkohole ausgewählt. Obwohl Keton, in Form von Hentriacontan-16-on, bei Porree die Hauptkomponente ist, wird sie aufgrund ihres Fehlens bei Iris und Indigolupine nicht weiter verglichen. Primäre Alkohole und Alkane sind in allen drei Wachsen vertreten. Ihre Anteile im Porree-wachs betragen 9,54 und 10,64 %, wobei Octacosan-1-ol mit 53,83 % der Stoffklasse den

größten Anteil bei den Alkoholen und Hentriacontan mit 54,94 % den größten Anteil bei den Alkanen hat. Bei Iriswachs muss zusätzlich zwischen der Cryo- und Stempel-methode unterschieden werden. Hier dominieren prim. Alkohole mit 59,71 (Cryo) und sogar mit 71,81 % (Stempel), wobei  $C_{28}$  (53,26 %) und  $C_{30}$  (33,02 %) bei der Cryome-thode und  $C_{28}$  (43,86 %) und  $C_{30}$  (47,04 %) bei der Stempelmethode den Hauptanteil ausmachen. Das gleiche Ergebnis zeigt sich bei Wachs der Indigolupine. Der Anteil der prim. Alkohole steigt von 53,65 (Cryo) auf 65,84 % in der Stempelfraktion. Die Dominanz der Kettenlängen wird dabei deutlich variiert:  $C_{26}$  (50,42 %),  $C_{28}$  (17,00 %) und  $C_{30}$  (16,77 %) in der Cryofraktion und  $C_{30}$  (47,62 %),  $C_{24}$  (34,27 %) und  $C_{26}$  (9,70 %) in der Stempelfraktion. Kapitel 4.2 zeigt, dass sowohl primäre Alkohole als auch Keton zur Schuppenbildung neigen. Der Anstieg der Alkohole in der Stempelfrak-tion, die hauptsächlich dreidimensionale Strukturen vom Blatt enthält, zeigt, dass die Schuppen von Iris und Indigolupine aus primären Alkoholen bestehen müssen. Auch Ketone zeigen dieses Verhalten, ihr hoher Anteil gegenüber den Alkoholen bei Porree-wachs lässt den Schluss zu, dass diese Schuppen zum Großteil aus Hentriacontan-16-on bestehen. Die Wechselwirkung mit anderen Komponenten zur Bildung von Schuppen kann nicht ausgeschlossen werden (JEFFREE et al. 2006<sup>44</sup>). Die Stempelmethode hat sich als eine Technik zum Aufzeigen von Tendenzen in der chemischen Zusammenset-zung der dreidimensionalen Strukturen im Vergleich zur Gesamtfraktion bewährt. Sie ermöglicht keine vollständige Trennung des basalen Films von den Strukturen.

Auch bei röhrenchenbildenen Wachsen, wie hier der Wiesenraute und Kapuzinerkres-se, kann diese Methode nur Tendenzen aufzeigen. Beim Wiesenrautewachs ist es, auch wenn nur bedingt, sogar gelungen eine Kleberfraktion zu isolieren. Die Idee hinter diesen Isolierungsmethoden besteht darin, dass die Kleberfraktion (basaler Wachsfilm) und die Stempelfraktion (dreidimensionale Wachsstrukturen) alle Substanzen der Cryo-fraktion (Gesamtfraktion) getrennt enthalten. An dieser Stelle soll der Fokus auf der Hauptkomponente Nonacosan-10-ol und den prim. Alkoholen liegen. Das Wachs der Kapuzinerkresse enthält zu 56,39 % (Cryo) bzw. 66,04 % (Stempel) Nonacosan-10-ol, daher auch die Namensgebung Nonacosanolröhrenchen. Diese Komponente ist auch prak-

tisch der einzige Vertreter der sekundären Alkohole. Die prim. Alkohole sind wiederum eher in der Cryo- (5,55 %) als in der Stempelfraktion (4,25 %) vertreten. Dies spricht, im Gegensatz zu den Wachsschuppen und Nonacosanol, für eine höhere Konzentration im Wachsfilm. Als eine Übereinstimmung wiederum stellt sich die Tatsache der Übereinstimmung der Kettenlängen der prim. Alkohole zwischen Iris- und Kapuzinerkressewachs heraus. Bei beiden dominieren die geradzahligen Längen, besonders stark sind Octacosanol und Triacontanol vertreten. Das Wachs der Wiesenraute hat eine geringe Menge an prim. Alkoholen (Cr: 8,64 %; St: 11,74 %; Kl: 3,75 %), aber einen besonders hohen Anteil an Octacosanol (Cr: 81,71 %; St: 66,05 %; Kl: 100 %). Der ansteigende Anteil von Stempel- über Cryo- zur Klebermethode zeigt, dass diese Komponente bevorzugt im basalen Film angereichert ist. Die geringe Menge an isoliertem Wachs der Klebermethode erklärt dabei, wieso Octacosanol als einzige Komponente isoliert werden konnte, die anderen prim. Alkohole sind im Gesamtwachs zu schwach vertreten und somit zu gering konzentriert gewesen. Bei Nonacosan-10-ol ist das Ergebnis gleich, aber der Grund für den hohen Anteil (100 %) in der Kleberfraktion ein anderer. In der Gesamtfraktion liegt der Nonacosan-10-ol-Anteil so hoch (über 95 % an allen sek. Alkoholen und 57,94 % am Gesamtwachs), dass nicht auszuschließen ist, dass aufgrund der Doppelstruktur<sup>2</sup> auf dem Blatt der Kleber nicht alle Strukturen einbetten konnte und somit ein Teil der Röhrchen in die Filmfraktion gelangte. Dieses Beispiel zeigt den Nachteil dieser Methode, welche eigentlich eine vollständige Trennung des Films von den Struktur als Ziel hat.

Die Wachskemie der Röhrchen von *Tropaeolum majus* L. wird von KOCH et al. 2006b<sup>58</sup> bestätigt (geringfügige Abweichungen in den Prozentzahlen bedingt durch mehrere Faktoren, wie z.B. das Blattalter (SCHNEIDER et al. 1990<sup>100</sup>), alle wichtigen Komponenten sind in ähnlichen Mengen vorhanden). Zum Vergleich, die Röhrchenchemie beim Lotusblatt (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) basiert auf ähnlichen Komponenten,

---

<sup>2</sup>Hierarchische Strukturbildung durch Kutikularfaltung der Pflanzenoberfläche und gleichzeitige ungleichmäßige Länge und Ausrichtung der Wachsstrukturen führt zur Verringerung der Kontaktfläche/Adhäsion.

allerdings in ganz anderen Verhältnissen zueinander. Dort dominieren die Diole mit 34,1 % (Nonacosan-5,10-diol), 18,6 % (Nonacosan-4,10-diol) und (Nonacosan-10,13-diol) und das sek. Alkohol Nonacosan-10-ol ist nur mit einem Anteil von 16,2 % am Gesamtwachs vertreten (KOCH et al. 2006b<sup>58</sup>).

Die Zusammensetzung der Wachsfilme wurde an zwei Beispielen, dem Zitronen- und Orangenblattwachs, untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass beide Wachse nahezu identisch sind. Hier wurden, mangels der dreidimensionalen Strukturen, nur die Cryofractionen der Blattober- und unterseite und die Chloroformfraktion des Zitronenwachses untereinander und mit der Cryofraction der Blattoberseite des Orangenwachses verglichen. Beim Vergleich des Zitronenblattwachses der Ober- und Unterseite ist feststellbar, dass sich der Anteil der prim. Alkohole (64,98 %) und Alkane (22,72 %) des Wachses der Blattoberseite umgekehrt zum Wachs der Unterseite verhält. Dort sind ihre Anteile bei 22,42 % (prim. Alkohole) und 71,31 % (Alkane). Dabei ändern sich die Verhältnisse der Kettenlängen der einzelnen Stoffklassen, bis auf die der organischen Säuren, nur geringfügig. Dennoch entscheidet weniger das Verhältnis der Alkane zu prim. Alkoholen als die Wachsmenge im Allgemeinen, ob sich auf der Blattoberfläche Wachsfilme oder dickere Wachskrusten bilden. Ein Hinzuziehen der Chloroformfraktion der Zitronenblätter, in der die prim. Alkohole und die Alkane gleich stark vertreten sind (40,52 zu 39,93 %), zeigt, dass aufgrund der kurzen Eintauchzeit von 2 s das abgelöste Wachs Beiträge der BOS und BUS im Verhältnis von ca. 1:1 enthält. Eine vollständige Ablösung würde den Anteil der in der Blattoberseite stärker konzentrierten prim. Alkohole zur Folge haben. Allerdings würde auch das Risiko steigen, intrakutikuläre Stoffe aus dem Blatt zu extrahieren (hier ist der Anteil an nicht identifizierten Substanzen bei 8,50 %; empfohlene Eintauchzeit 5-20 s (HOLLOWAY et al. 1984<sup>39</sup>, durch eigene Vorversuche auf 2 s reduziert). Auch zu beachten wäre, dass bestimmte Komponenten, wie Aldehyde, nur schwer löslich sein können und somit schwerer mit Chloroform extrahierbar sind.

Ein Vergleich des Zitronenblattwachses mit dem Orangenblattwachs (beide BOS) zeigt hohe Übereinstimmungen was die Stoffklassen, aber auch die Verteilung der Ket-



tenlängen innerhalb der Klassen, angeht. Der Anteil der prim. Alkohole ist mit 72,71 % (64,98 % bei Zitronenblattoberseite) und der Alkane mit 16,16 % (22,72 %) ähnlich. Adaxiale Wachsfilm (BOS) von *Prunus laurocerasus* L., welche von JETTER & SCHÄFFER 2001<sup>49</sup> analysiert worden sind, haben einen Alkananteil von 35,6 % und beinhalten 19,5 % prim. Alkohole (Umrechnung einer Menge pro Fläche ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) in einen prozentualen Anteil). Dies entspricht mit einem Verhältnis von 1,82:1 nicht dem der hier untersuchten Wachse, bei denen die massenreichere Komponente mit mindestens 3:1 überwiegt. Zudem findet sich im Wachs von Kirschlorbeerblättern ein Anteil von 23,4 % an Triterpenoiden wieder, welcher bei *Citrus*-Blättern fehlt. Dennoch kann davon ausgegangen werden, dass das Zusammenspiel von Alkanen und prim. Alkoholen entscheidend für die Bildung der Wachsfilm ist.

Ein sehr hoher Anteil an Alkanen (53,62 %), ein geringer an prim. Alkoholen (6,53 %) und ein mittelhoher an organischen Säuren (14,29 %) und Estern (10,61 %) sind kennzeichnend für die Wachskemie von *Hebe pinguifolia*. Die Werte der ebenfalls durchgeführten Stempelmethode zeigen nur geringe Abweichungen zur Cryomethode. Ein Vergleich mit der Chemie der quergerieften Stäbchen von *Aristolochia gigantea* zeigt keine Übereinstimmungen bezüglich den Hauptstoffklassen (MEUSEL et al. 1999<sup>74</sup>). Mit Anteilen von 29 und 27 % sind die org. Säuren und Ketone, hauptsächlich das Hentriacontan-16-on (wie bei Porreeblattwachs), am stärksten vertreten. Durch diese Tatsache ist ebenfalls der morphologische Unterschied zwischen beiden Stäbchenstrukturen groß; *Aristolochia gigantea* besitzt die eben erwähnten quergerieften Stäbchen, welche einen bildlichen Vergleich mit unterschiedlich großen, übereinander gestapelten Tellern zulassen und auf der anderen Seite die gewundenen dreikantigen Stäbchen der Strauchveronika.

Als Gesamtfazit lassen sich mehrere Schlüsse ziehen. Zum einen konnten alle untersuchten Wachse zu mehr als 90 % mittels GC-MS analysiert werden. Zum anderen konnten die unterschiedlichen Wachstrennungsmethoden jedoch nicht das gewünschte Potential aufzeigen, sie lieferten dennoch brauchbare Tendenzen zur Wachsverteilung im basalen Wachsfilm und in den Strukturen. Die Cryomethode zeigte hierbei, be-

sonders in der Abbildung 3.6, ihre Einsatzmöglichkeit zur Abhebung und schadlosen Übertragung von Wachsstrukturen auf technische und biologische Oberflächen. Dabei stellte sich heraus, dass durch die geringe Eintauchzeit in Chloroform sowohl die Cryo- als auch die Chloroformfraktion starke Übereinstimmungen aufzeigen und damit beide für die Abhebung bzw. Extraktion des Gesamtwachses geeignet sind. Allerdings hat die Cryomethode den Vorteil der Selektivität der Blattseite, und das eingesetzte Triethylenglycol ist vollständig mit Wasser aus der Probe entfernbar. Den Grund für das Misslingen einer vollständigen Trennung können REM-Bilder aufzeigen. Diese Bilder der Stempelmethode zeigen, wieso sich in der Analyse so große Teile des Wachsfilms finden lassen. Die Röhrchen der Kapuzinerkresse wachsen neben der einfachen nahezu gleichmäßigen Verteilung auch in einer Art von Clustern, die aus der Oberfläche herausragen. Beim Abbrechen dieser Cluster werden auch Teile des Films mit abgebrochen und gelangen so in die Analyse, wie es Abbildung 3.16 b) zeigt. Auch bei den anderen Wachsstrukturen ist dies zum Teil der Fall, allerdings ist diese Tatsache besonders gut bei Kapuzinerkresse zu beobachten.

Eine tabellarische Gesamtübersicht der Wachse, ihrer gebildeten Strukturen sowie der Hauptkomponenten befindet sich vor dem Kapitel 3.5 in Tabelle 3.4.

Als letzter Punkt sind die Ergebnisse der DSC zu diskutieren. Dabei stechen zwei Besonderheiten hervor. Zum einen sind die Flächen der Heiz- und Kühlkurven bei jedem Wachs nahezu identisch, was für die Korrektheit der Messungen spricht. Während die Wärmeänderung der 1. Heizkurve bei allen vier Messungen einen anderen Verlauf als beim 2. Heizen besitzt, sind alle Kühlkurven deckungsgleich. Da die Peakfläche gleich ist, muss es sich um Umordnungsprozesse der Moleküle beim schrittweise fortschreitenden Schmelzen handeln. Die Möglichkeit der Verdampfung von enthaltenen Lösungsmitteln oder leicht verdampfenden Komponenten kann ausgeschlossen werden, da die Flächen der Heiz- und Kühlkurven identisch sind. Die Tatsache, dass die Wachse aus vielen verschiedenen Molekülen bestehen, scheint dabei eine Rolle zu spielen; sowohl die beiden Gesamtwachse der Kapuzinerkresse und des Porrees, als auch die Hentriacontan-16-on-Probe, welche zu über 90 % rein ist und somit nur einige andere

Ketone enthält, zeigen das gleiche Verhalten beim 1. Schmelzen. Das reine Tetracosan wurde nur einmal geheizt und abgekühlt und somit ist es nicht möglich festzustellen, ob auch bei einer Reinkomponente diese Unterschiede auftreten. Dafür zeigt es beim Erstarren, dass sich bei  $47,8^{\circ}\text{C}$  eine metastabile Phase ausbildet, welche dann bei  $39,8^{\circ}\text{C}$  in eine stabile umgewandelt wird. Die fehlende Übereinstimmung des Schmelz- und Erstarrungspunktes (Hysteresis) bei allen Peaks wird durch die Überwindung einer Aktivierungsbarriere bei der Kristallisation und der dadurch möglichen Unterkühlung der Schmelze hervorgerufen.



## Kapitel 4

# Rekristallisation von Wachsen zur Erzeugung biomimetischer Oberflächen

Das vorherige Kapitel widmete sich der Informationsgewinnung über die physikalischen Eigenschaften, wie z.B. den Schmelzpunkt, und der chemischen Analyse der Wachsgemische. Dieses Wissen ist für eine Übertragung der Wachsstrukturen auf technische Oberflächen zwingend erforderlich, wenn man nicht auf die Cryomethode zur Wachsabhebung und -übertragung zurückgreifen möchte. Das Lösen der Wachsstrukturen mittels Chloroform und deren Rekristallisation auf gewünschten Oberflächen ist ein geeigneteres Mittel für die Erzeugung von biomimetischen Oberflächen mit den Eigenschaften der Wachse (z.B. Superhydrophobie) der Pflanzenoberfläche. Die dabei auftretenden Probleme der inhomogenen Verteilung der Wachsstrukturen bei einer Rekristallisation aus Lösung sind in Kapitel 2.7.2 beschrieben. Eine bessere Methode zur Erzeugung homogen verteilter Wachse ist die thermische Aufdampfung (Kapitel 2.7.4). Um festzustellen, ob die Wachse ein Temperaturintervall von 20 bis 140°C ohne thermische Zersetzung durchfahren können, wurden zuerst Versuche zu deren Stabilität durchgeführt.

## 4.1 Thermische Stabilität von Wachsgemischen

Die Frage, die dieses Kapitel beantwortet, lautet: Ist es möglich, mit Chloroform extrahierte oder mit der Cryomethode abgehobene Wachse *mittels thermischer Aufdampfung*, also ohne chemische Kontamination durch Lösungsmittel, auf nicht biologischen Oberflächen zur Rekrystallisation zu bringen und damit die Strukturen und ihre Eigenschaften zu übertragen? Zur Beantwortung wurde die Gaschromatographie und Massenspektrometrie zur Hilfe herangezogen. Dazu wurde Wachs von Porree (*Allium porrum* L.) mittels Chloroform extrahiert. Ein Teil des Waxes wurde, wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben, analysiert, um die Zusammensetzung der Stoffklassen vor dem Aufdampfen aufzuklären. Wie in Kapitel 2.7.4 beschrieben, wurde eine geringe Menge von 10 mg auf das Heizelement gegeben, von 20 bis auf 140°C aufgewärmt und dabei auf einen Glasobjektträger aufgedampft. Schon eine Minute nach der Aufdampfung setzte die Rekrystallisation ein, bei der das Wachs auf dem Objektträger milchig trüb wurde. Das Wachs wurde mit Chloroform abgewaschen und ebenfalls mittels GC-MS analysiert. Der Vergleich beider Proben ist in Abbildung 4.1 zu sehen.

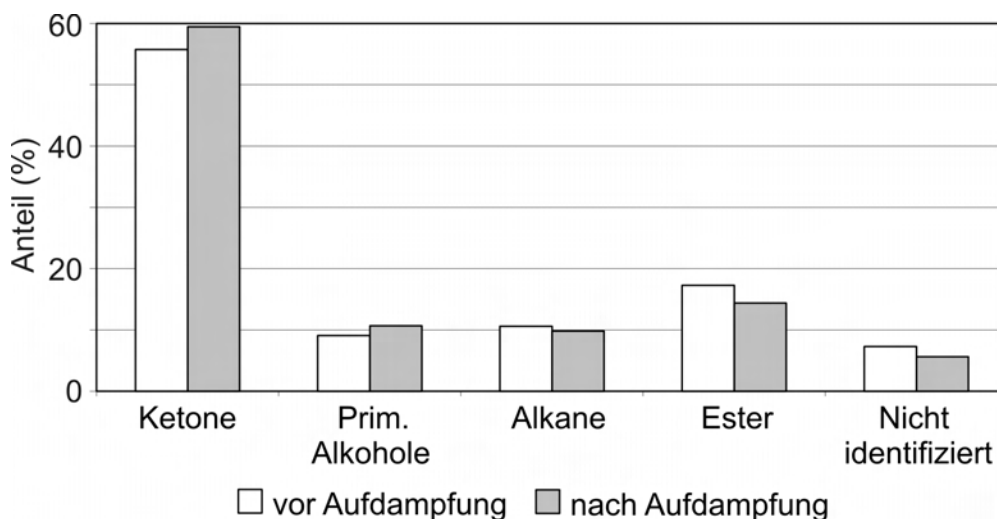


Abbildung 4.1: Ergebnisse der Gaschromatographie und Massenspektrometrie der Stoffklassen von Porreewachs vor (weiß) und nach dem Aufdampfen (grau)

Beide Fraktionen zeigen nur geringe Abweichungen voneinander. Der Anteil der

Ketone ist nach der Aufdampfung leicht erhöht (vor: 55,75 %, nach: 59,47 %). Dies trifft auch bei den primären Alkoholen zu, deren Anteil steigt von 9,08 % auf 10,67 %. Bei den Alkanen und Estern ist es umgekehrt, deren Mengen fallen. Die Menge der Alkane sinkt von 10,59 % auf 9,83 % und die der Ester von 17,27 % auf 14,40 %. Der Anteil an nicht identifizierten Komponenten sinkt ebenfalls, und zwar von 7,303 % auf 5,62 %.

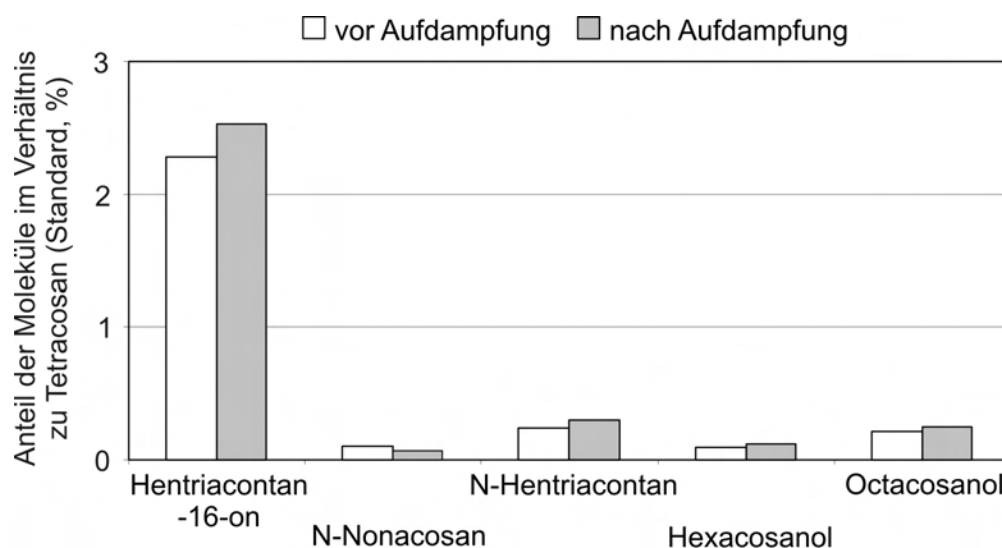


Abbildung 4.2: Ergebnisse der Gaschromatographie und Massenspektrometrie der wichtigsten Moleküle von Porreewachs vor (weiß) und nach dem Aufdampfen (grau); gezeigt wird das Verhältnis dieser Moleküle zum zugegebenen Standard (Tetracosan), welcher der Menge 1=100 % entspricht

Während die vorherige Untersuchung die Stabilität der Stoffklassen nach der Aufdampfung bewies, gibt Abbildung 4.2 die Stabilität von einzelnen ausgesuchten Molekülen des Porreewachses wieder. Als Bezug wurde der zugegebene Standard (Tetracosan) genommen, welcher dem Wert 1 entspricht. Von den fünf Molekülen nimmt nur das aufgedampfte Nonacosan zum nicht aufgedampften ab, die restlichen Moleküle können ihren Anteil steigern.

Basierend auf diesen Ergebnissen sind die Voraussetzungen für eine erfolgreiche Nutzung der Aufdampfungsmethode gegeben. Die hier aufgeführten beiden REM-Auf-

nahmen in Abbildung 4.3 liefern den visuellen Beweis dafür, dass sowohl Einzelkomponenten als auch Gesamtwachse aufgedampft und zur Rekristallisation gebracht werden können. Im Fall von Porreewachs (enthält die schuppenbildenden Komponenten Hentriacontan-16-on und Octacosanol, wobei bei Porree das Keton für die Wachstrukturen verantwortlich ist) und Octacosanol sehen beide Proben trotz der chemischen Unterschiede (Porreewachs hat 22 identifizierte Komponenten) sehr ähnlich aus. Da Porreewachs nicht nur aus strukturbildenden Wachsen besteht (55,45% Hentriacontan-16-on, 10,59% Alkane und 5,13% Octacosanol), ist eine geringfügige Erhöhung der Wachsmasse bei der Aufdampfung erforderlich.

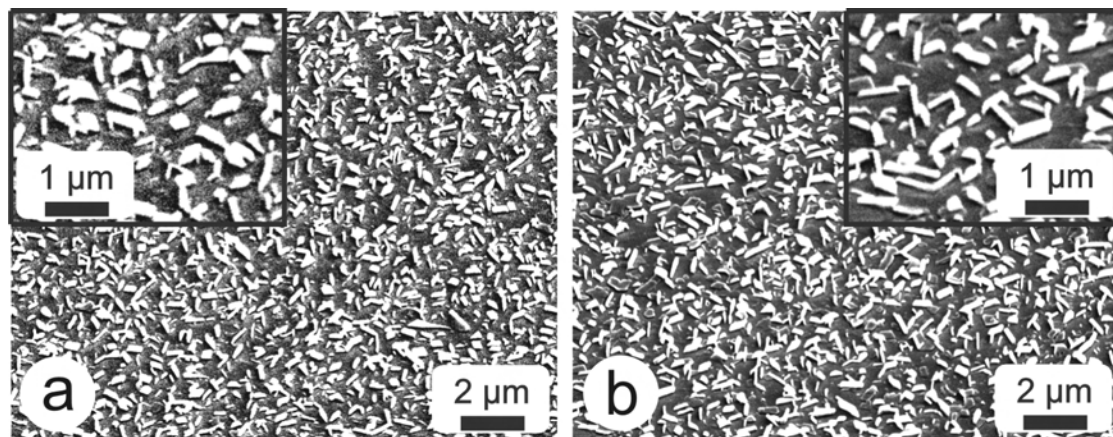


Abbildung 4.3: REM-Bilder der beiden Proben von rekristallisierten Schuppen von a) Octacosanol (250  $\mu\text{g}$  bei 4 cm Abstand = ca. 2,49  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) und b) Porreewachs (220  $\mu\text{g}$  bei 2 cm Abstand = ca. 8,75  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )

## 4.2 Wachsschuppen

Dieses Kapitel beschäftigt sich mit der Rekristallisation von Wachsschuppen, wie sie z.B. auf Porree (*Allium porrum* L.) oder der Schwertlilie (*Iris germanica* L.) vorkommen. Aber auch die Rekristallisation von bestimmten Einzelkomponenten liefert vergleichbare Ergebnisse. Dazu wurden die Hauptkomponenten aus beiden Gesamtwachsen, vom Porree das Hentriacontan-16-on (Palmiton) und von der Schwertlilie das



Octacosanol, genutzt.

### 4.2.1 Temperatureinfluss

Dieser Abschnitt befasst sich mit dem Einfluss der Temperatur auf die Bildung von Octacosanolschuppen. Nach dem Aufdampfen von 1 *mg* Octacosanol bei einem Abstand von 2 *cm*, was einer Bedeckung des Substrats von ca. 40  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  entspricht, wurde ein Teil der Proben bei 25°C, der andere bei 50°C in einem Ofen aufbewahrt.

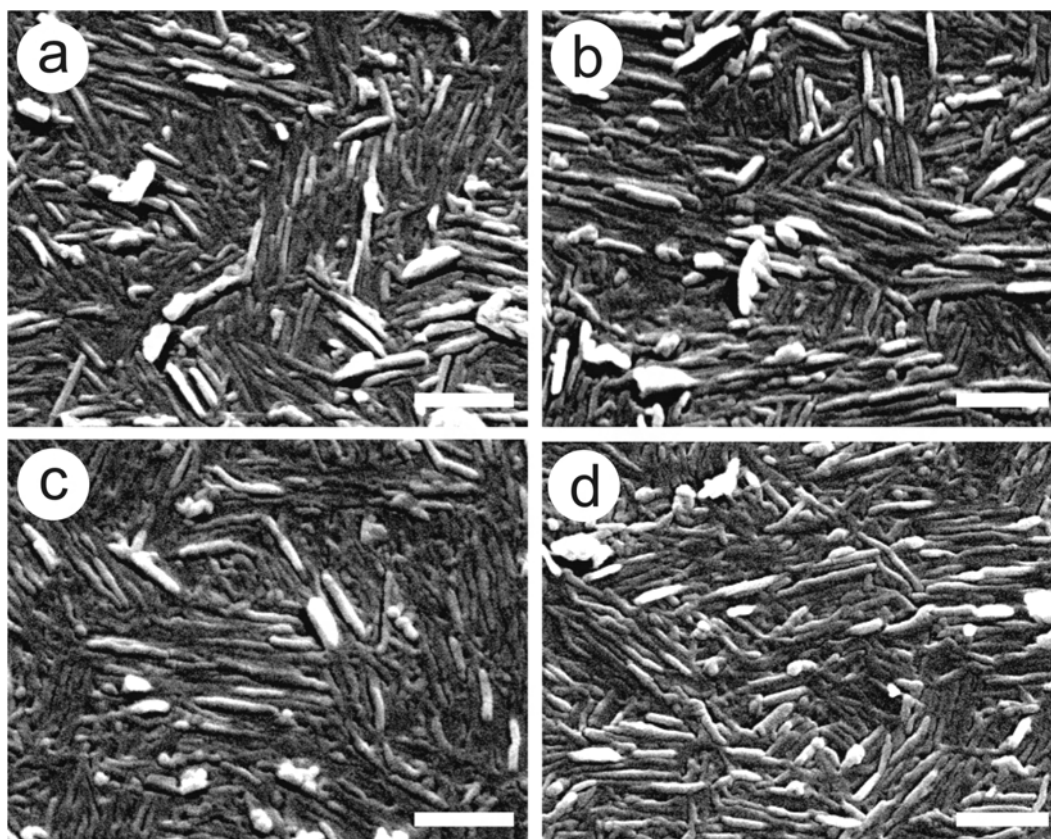


Abbildung 4.4: Rekristallisierte Wachse aus Octacosanol auf HOPG, aufbewahrt bei 25°C für a) 1 Tag, b) 3 Tage, c) 7 Tage und d) 10 Tage (1020  $\mu\text{g}$  bei 2 *cm* Abstand = 40,5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen: 1  $\mu\text{m}$

Der Zeitraum wurde mit 1 bis 10 Tagen festgelegt. Da Octacosanol eine terminale polare Hydroxygruppe besitzt, würden die Schuppen als flachliegende Plättchen auf den

polaren Substraten Glas oder Silizium rekristallisieren (siehe Ergebnisse in Kapitel 4.2.3 sowie KOCH 2008<sup>55</sup> und HOMMES 2010<sup>42</sup>). Um dies von Anfang an auszuschließen, wurde als Substrat HOPG (Highly Ordered Pyrolytic Graphite) ausgewählt.

Abbildung 4.4 zeigt Octacosanolschuppen nach 1, 3, 7 und 10 Tagen Rekristallisationsdauer bei einer Temperatur von 25°C. Abbildung 4.5 zeigt Proben, die gemeinsam mit den bei 25°C gelagerten Proben bedampft wurden und somit die gleiche Wachsmenge aufweisen. Die Lagerungstemperatur lag aber bei 50°C, die Dauer wurde ebenfalls auf 1, 3, 7 und 10 Tage festgelegt.

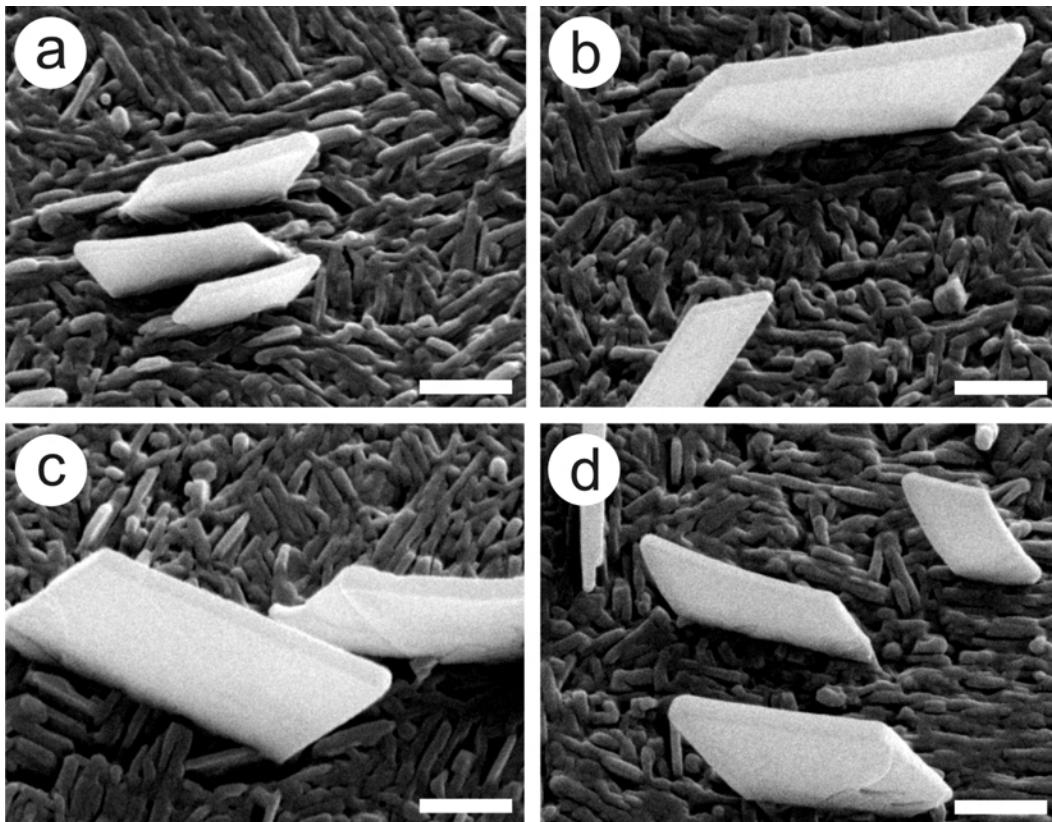


Abbildung 4.5: Rekristallisierte Schuppen aus Octacosanol auf HOPG, aufbewahrt bei 50°C für a) 1 Tag, b) 3 Tage, c) 7 Tage und d) 10 Tage (1020  $\mu\text{g}$  bei 2 cm Abstand = 40,5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen: 1  $\mu\text{m}$

Die bei 25°C gelagerten Proben weisen eine mikrostrukturierte Oberfläche aus dicht stehenden Wachsstrukturen auf. Aus dieser Oberfläche ragen vereinzelt kleine Schup-

pen heraus. Auf der gesamten Fläche zeigen die Strukturen mit ihrer hexagonalen Anordnung einen ausgeprägten Einfluss der Substratsymmetrie auf. Innerhalb des gesamten Zeitintervalls von 10 Tagen sind keine weiteren Veränderungen beobachtbar. Jedoch zeigen Beobachtungen von KOCH (2008<sup>55</sup>) die Bildung von zahlreichen Schuppen bei 25°C. Die Nutzung anderer Konzentrationen (Lösung aus 1 mg Wachs in 1 ml Chloroform, applizierte Tropfengröße 10  $\mu$ l) kann der entscheidende Faktor sein.

Diese Proben zeigen, neben der gleichstrukturierten flachen Oberflächenbedeckung wie sie bei den 25°C-Proben auftritt, schon nach einem Tag große, flache Schuppen auf, die senkrecht zur Oberfläche stehen. Ihre rhomboide Form ist, bis auf wenige Fehlstellen, nahezu perfekt auskristallisiert. (Zum Vergleich: die flachliegende Parallelelogramme von Octacosanol sind in Kapitel 4.2.3 zu sehen, sie zeigen ebenfalls eine perfekte Auskristallisierung, jedoch waagerecht zur der Ebene.) Weitere Veränderungen mit der Zeit sind nicht beobachtet worden. Die Variation der Schuppengröße und -form in den einzelnen Bildern ist rein statistisch und durch die Wahl des Bildaufnahmebereichs gegeben, denn jede Probe weist eine Verteilung von Schuppengrößen auf.

Um die Auswertung nicht nur auf rein visuelle Methoden zu stützen, wurden von den Proben zusätzlich die statischen Kontaktwinkel, die Hysterese<sup>1</sup> und, sofern messbar, der Abrollwinkel gemessen. Tabelle 4.1 zeigt eine Auflistung der erhaltenen Daten und ihrer Standardabweichung.<sup>2</sup>

Die Daten in Tabelle 4.1 zeigen, dass es innerhalb einer Versuchsreihe bei gleichbleibender Temperatur mit der Zeit nur zu geringen Veränderungen der Kontaktwinkel-

---

<sup>1</sup>Der Begriff Hysterese wurde schon im Kapitel 3.5 verwendet. Während er dort das nicht identische Verhalten der Wachse während der Heiz- und Kühlprozesse beschrieb, ist Hysterese bei Benetzungsexperimenten der Kapitel 4 und 5 als Differenz des Vorschreite- und Rückschreitewinkels eines abrollenden oder haftenden Tropfens definiert. Ein hoher Wert spricht für eine starke Tropfendeformation, ein niedriger spricht für ein Abrollen des Tropfens bei geringen Neigungen und geringer Deformation.

<sup>2</sup>Nicht alle Tropfen sind von der Oberfläche abgerollt. In diesem Fall wurde kein Abrollwinkel angegeben (-); Abrollwinkel unter 4° ließen sich nicht exakt messen, da der Tropfen beim Starten des Kippvorgangs sofort abrollte. Die Daten der Winkel unter 4° sind deshalb nicht exakt angegeben. Zu den übrigen gemessenen Werten wurde zusätzlich die Standardabweichung angegeben.

Tabelle 4.1: Auflistung der gemessenen statischen Kontaktwinkel, der Hysterese und der Abrollwinkel bei Octacosanolschuppen, welche bei 25 oder 50°C rekristallisierten (Mittelwerte von jeweils 10 Messungen)

Probe	Statischer KW (deg)	Hysterese (deg)	Abrollwinkel (deg)
25°C 1 Tag	148,81 $\pm$ 1,59	49,61 $\pm$ 3,10	-
25°C 3 Tage	148,96 $\pm$ 161	48,14 $\pm$ 4,16	-
25°C 7 Tage	146,79 $\pm$ 2,12	50,93 $\pm$ 3,43	-
25°C 10 Tage	148,17 $\pm$ 2,91	50,41 $\pm$ 3,25	-
50°C 1 Tag	157,51 $\pm$ 1,99	3,55 $\pm$ 0,52	< 2
50°C 3 Tage	158,02 $\pm$ 1,91	3,27 $\pm$ 0,44	< 2,5
50°C 7 Tage	157,44 $\pm$ 2,09	3,44 $\pm$ 0,38	< 2
50°C 10 Tage	156,69 $\pm$ 2,74	3,46 $\pm$ 0,39	< 2,5

und Hysteresewerte gekommen ist. Der Unterschied der statischen Kontaktwinkel zwischen den beiden Versuchsreihen beträgt etwa 8 bis 10°, der der Hysterese ist jedoch viel größer (48,14° bis 50,93° zu 3,27° bis 3,55°). Bei den 50°C-Proben sind die Tropfen schon bei einer Kippung von maximal 2,5° abgerollt, während sie bei den 25°C-Proben an der Oberfläche selbst bei 90°-Kippung hafteten.

### 4.2.2 Lösungsmiteleinfluss

In diesem Abschnitt wird der Lösungsmiteleinfluss auf den Selbstorganisationsprozess von Octacosanol- und Palmitonschuppen betrachtet, allerdings ist zu beachten, dass zu den Lösungsmitteln auch die Temperatur variiert und somit miteinbezogen wird (erneut 25 und 50°C). Da mit steigender Menge an aufgedampftem Wachs der Substrateffekt stark gemindert wird (siehe Abbildung 4.8), wurde anstelle von HOPG Glas als Substrat verwendet. Da sich die Selbstorganisation der Schuppen innerhalb eines Tages vollzieht, liegt der Schwerpunkt dieser Versuchsreihen auf dem Einfluss des Lösungsmittels auf die Wachsstruktur selbst. Das Lösungsmittel greift vor allem am Anfang in den Prozess der Selbstorganisation ein und ist bereits nach kurzer Zeit,

insbesondere bei 50°C, verdunstet (bei 25°C Lagertemperatur wurde das nicht verdunstete Wasser nach einem Tag entfernt). Die Proben selbst wurden mit der gleichen Wachsmenge wie die vorherigen Proben bei den Temperaturexperimenten bedampft (1030  $\mu\text{g}$  bei 2 cm), was in einer Bedeckung von 41  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  resultierte. Sie wurden in Polypropylen-Petrischalen (im Fall von Chloroform in Glas-Petrischalen) bei entsprechender Temperatur aufbewahrt, die Deckel wurden locker auf flaches Filterpapier gelegt, um Kondensation des Lösungsmittels zu verhindern. Als Lösungsmittel wurden destilliertes Wasser, Ethanol und Chloroform verwendet, wovon jeweils 2 ml auf den Boden der Schale gegeben wurden. Abbildung 4.6 zeigt ein Schema der Rekristallisationsschalen. Die Probe wird auf einen Sockel gegeben, um direkten Kontakt mit dem Lösungsmittel zu verhindern. Die Pfeile zeigen die Verdunstungsrichtungen des Lösungsmittels, das Filterpapier dient der Verhinderung von Kondensation am Deckel und möglichen Heruntertropfens.

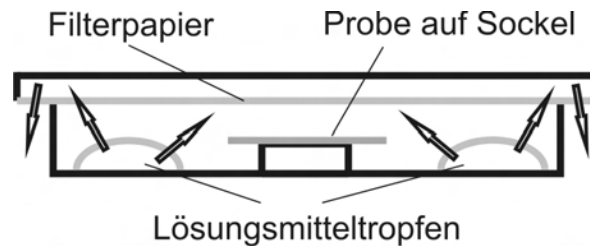


Abbildung 4.6: Schema des Versuchsaufbaus der Rekristallisation von Wachsen mit Hilfe von Lösungsmitteln

Abbildung 4.7 zeigt Wachsstrukturen aus Octacosanol, die in Anwesenheit von Wasserdampf bei 25°C rekristallisiert sind. Als Zeitintervall sind wieder 1, 3, 7 und 10 Tage ausgewählt worden.

Die REM-Bilder (4.7 (a) bis (d)) zeigen keine rekristallisierten Schuppen, wie sie bei der vorherigen Versuchsreihe bei 50°C ohne Lösungsmitteldampf zu sehen waren (Kapitel 4.2.1). Es haben sich einige wenige große Schuppen gebildet, diese haben an ihren Seiten jedoch zusätzliche kleine Schuppen, die eine geometrische Zuordnung unmöglich machen. Trotz der Verwendung von Glas als Substrat und einer Temperatur

von 25°C haben sich, im Gegensatz zu den Versuchen im vorherigen Kapitel 4.2.1, diese dreidimensionalen Strukturen gebildet. Der Substrateffekt des polaren Glases hat kaum einen Einfluss auf die Wachstumsrichtung der Strukturen, was vermutlich mit der großen Menge an aufgedampftem Wachs zusammenhängt. Eine Beschleunigung oder Verlangsamung der Selbstorganisation durch den Wasserdampf ist aus dieser Versuchsserie nicht zu erkennen.

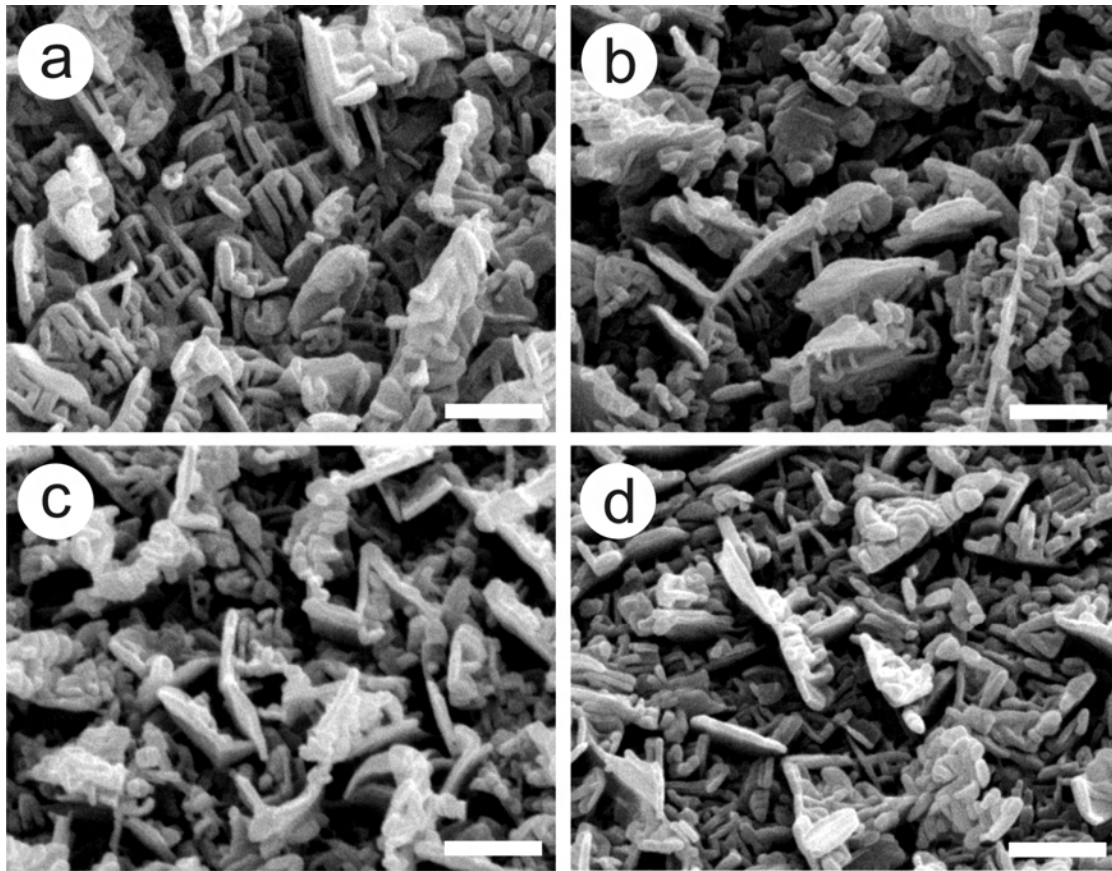


Abbildung 4.7: Rekristallisierte Schuppen aus Octacosanol, aufbewahrt in einer Wasserdampfatmosfera bei 25°C für a) 1 Tag, b) 3 Tage, c) 7 Tage und d) 10 Tage ( $1030 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $41 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen:  $1 \mu\text{m}$

Abbildung 4.8 zeigt ebenfalls Wachsstrukturen, die in Gegenwart von Wasserdampf innerhalb von 1, 3, 7 und 10 Tagen rekristallisierten, allerdings wurde die Temperatur auf 50°C eingestellt. Nach einem Tag sind die Ergebnisse der Selbstorganisation denen

bei 25°C ähnlich. Ineinander verkeilte und miteinander zusammengewachsene Schuppen geringer Größe prägen die Oberfläche. Nach drei Tagen sind die ersten Schuppen zu sehen, deren Dimension und Form den Schuppen der Versuche bei 50°C ohne Lösungsmittel entspricht. Ihre Größe und Anzahl nimmt mit der Zeit (7 und 10 Tage) zu, einige Schuppen weisen wieder die Parallelogramm-Geometrie auf. Ihre Winkel zur Oberfläche variieren von 30 bis 80°. Auch hier wurden wiederum die Kontaktwinkeldaten ermittelt und zusammengefasst, Tabelle 4.2 listet die entsprechenden statischen Kontaktwinkel, die Hysteresen und die Abrollwinkel auf.

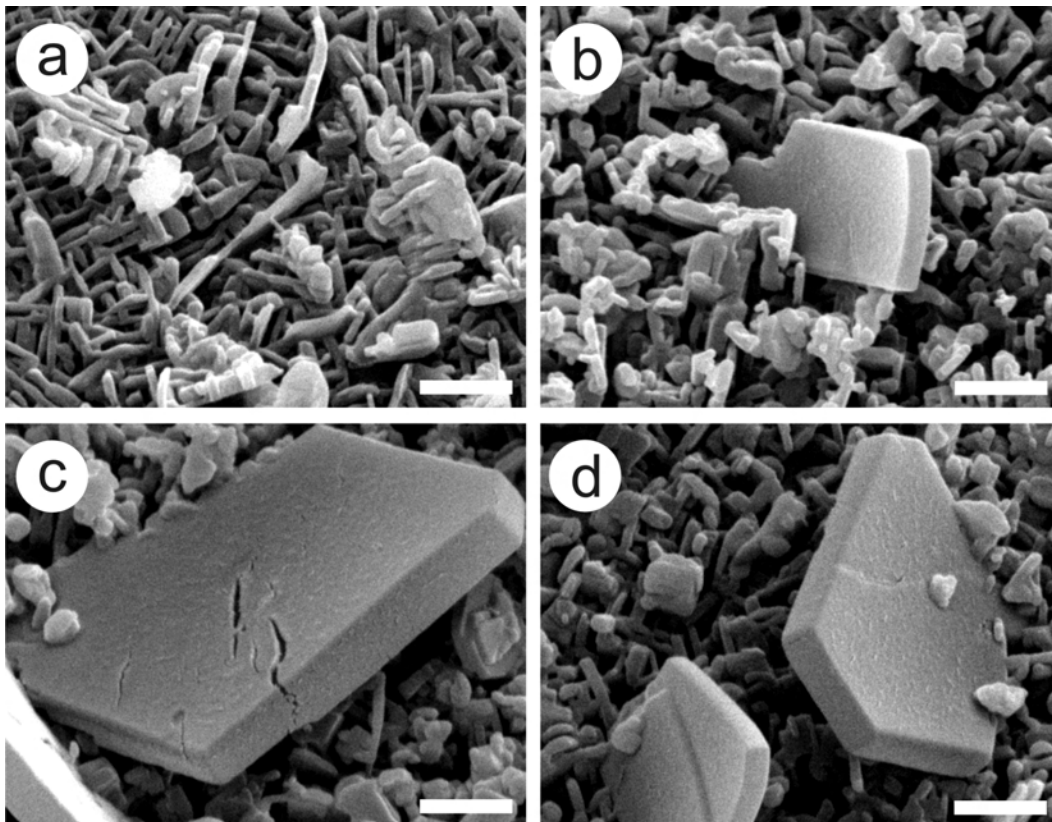


Abbildung 4.8: Rekristallisierte Schuppen aus Octacosanol, aufbewahrt in einer Wasserdampf-atmosphäre bei 50°C für a) 1 Tag, b) 3 Tage, c) 7 Tage und d) 10 Tage ( $1030 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $41 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen:  $1 \mu\text{m}$

Die statischen Kontaktwinkel und die Hysteresewerte ändern sich mit der Zeit kaum. Der Abrollwinkel ist bei den 50°C-Proben gleich oder sogar geringer als bei den Pro-

ben, die bei 25°C rekristallisierten. Obwohl die Proben der beiden Versuche mit dem Lösungsmittel Wasser unterschiedlich rekristallisieren, sind ihre Kontaktwinkeldaten nahezu gleich, beide Oberflächen sind superhydrophob. Der Einfluss von Wasser auf die hier durchgeführte Rekristallisation ist dennoch geringer als in der Natur auf der Pflanze selbst.

Tabelle 4.2: Auflistung der gemessenen statischen Kontaktwinkel, der Hysteresen und der Abrollwinkel bei Octacosanol-schuppen, welche bei 25 oder 50°C in Gegenwart von Wasserdampf rekristallisierten (Mittelwerte von jeweils 10 Messungen)

Probe	Statischer KW (°)	Hysterese (°)	Abrollwinkel (°)
25°C 1 Tag	162,64 ± 1,70	6,53 ± 1,24	< 4
25°C 3 Tage	162,95 ± 1,31	6,58 ± 0,67	< 3
25°C 7 Tage	162,58 ± 1,25	5,96 ± 0,77	< 3
25°C 10 Tage	163,71 ± 1,75	4,56 ± 0,66	< 2,5
50°C 1 Tag	162,80 ± 1,31	3,71 ± 0,74	< 2
50°C 3 Tage	161,96 ± 1,31	5,35 ± 0,80	< 2,5
50°C 7 Tage	163,93 ± 2,08	4,55 ± 0,51	< 2
50°C 10 Tage	164,32 ± 1,11	5,26 ± 0,50	< 2

Neben Wasser wurde auch Ethanol als Lösungsmittel für die Selbstorganisation verwendet. Durch den höheren Dampfdruck ist die Konzentration des Alkohols in der Atmosphäre innerhalb der Petrischale während der Rekristallisation höher. Zudem verfügt das Ethanolmolekül über einen, wenn auch kurzen, apolaren, hydrophoben Alkylanteil, der auch an die Kohlenstoffkette des Octacosanolmoleküls binden und somit das gesamte Molekül solvatisieren kann. Um einen direkten Vergleich mit den vorherigen Versuchen machen zu können, wurden wiederum die gleichen Versuchsparameter genutzt. Die Kristallisationsdauer wurde auf 1, 3, 7 und 10 Tage und die Wachsmenge auf 1020  $\mu\text{g}$  bei 2 cm Abstand ( $= 40,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) festgelegt. Abbildung 4.9 zeigt die Rekristallisationsergebnisse der Versuche bei 25°C Lagerungstemperatur.

Nach einem Tag sind bei diesen Proben noch keine Unterschiede zu den Proben, die in Gegenwart von Wasserdampf rekristallisierten, zu sehen. Einige wenige aufrecht ste-



hende Schuppen werden von vielen kleinen gestützt. Diese kleinen Schuppen bedecken zudem die gesamte Oberfläche des Substrats. Erste Unterschiede sind nach drei Tagen zu sehen. Zwischen den kleinen Schuppen, die an Größe und Volumen dazugewonnen haben, sind viele große zu sehen. Diese haben eine rechteckige, kantige Struktur, die an die Schuppen aus den Temperaturversuchen erinnern. Nach sieben Tagen nimmt ihre Größe weiter zu. Dimensionen von mehr als  $1 \mu\text{m}^2$  sind auffindbar. Der Anteil der kleineren Schuppen geht weiter zurück. Die zehn Tage lang gelagerte Probe weist aber überraschenderweise wieder mehr kleine, maximal  $0,5 \mu\text{m}$  breite, Schuppen auf.

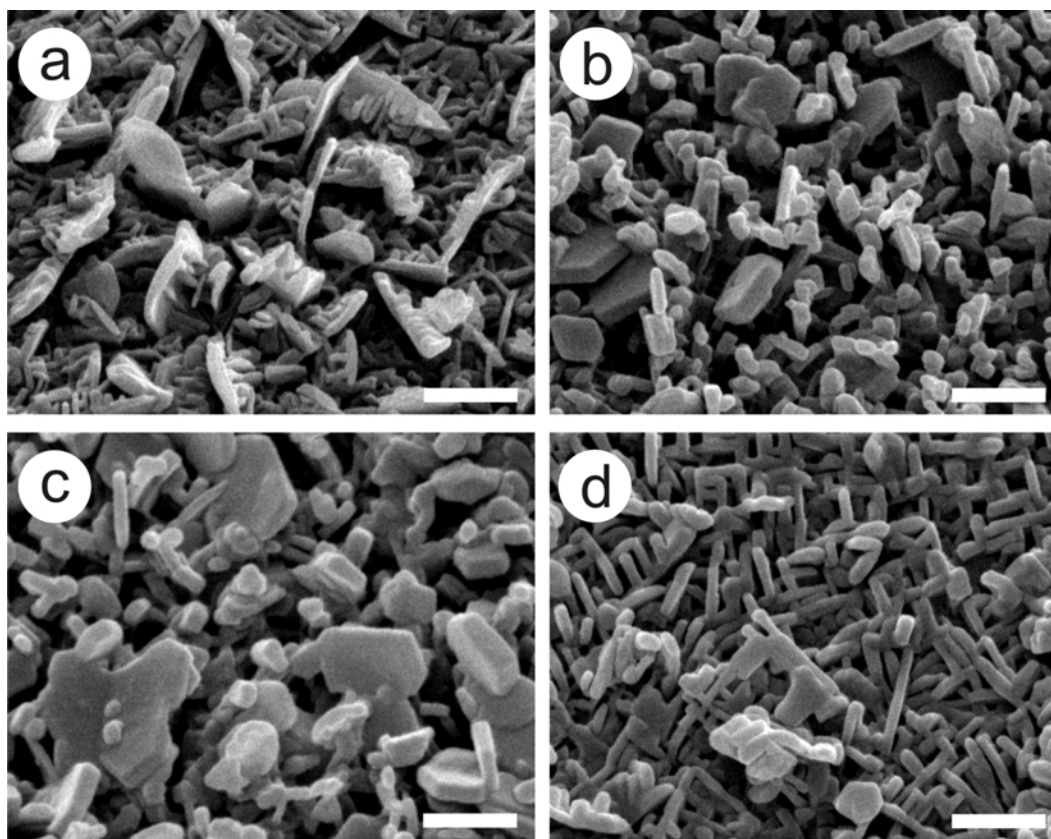


Abbildung 4.9: Rekristallisierte Schuppen aus Octacosanol, aufbewahrt in einer Ethanol dampfatmosphäre bei  $25^\circ\text{C}$  für a) 1 Tag, b) 3 Tage, c) 7 Tage und d) 10 Tage ( $1020 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $40,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen:  $1 \mu\text{m}$

Da es aufgrund des Besputterungsvorgangs mit Gold nicht möglich ist, die gleiche Probe über den Gesamtzeitraum zu beobachten (das Sputtern verlangsamt zum Teil

die Rekristallisation), müssen für jeden Zeitabschnitt neue Proben angeschaut werden. Trotz gleicher Präparation ist es möglich, dass mit der Zeit Unterschiede in der Rekristallisation vorkommen können. Die Auswertung der gemessenen Kontaktwinkeldaten (Tabelle 4.3) zeigt dennoch, dass es kaum einen Benetzungsunterschied zwischen Proben (a), (b), (c) und (d) gibt.

Im zweiten Teil des Versuchs wurden die bedampften Proben bei 50°C für 1, 3, 7 und 10 Tage aufbewahrt. Die rasterelektronischen Bilder zeigt Abbildung 4.10.

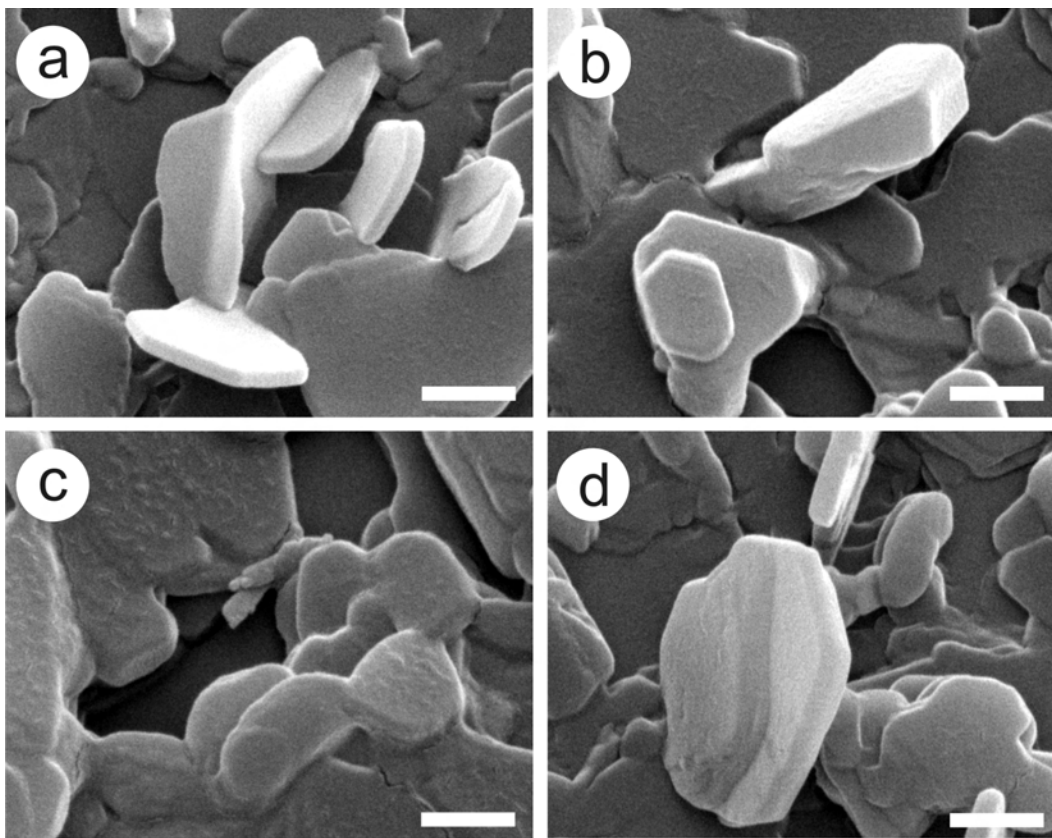


Abbildung 4.10: Rekristallisierte Schuppen aus Octacosanol, aufbewahrt in einer Ethanol dampfatmosphäre bei 50°C für a) 1 Tag, b) 3 Tage, c) 7 Tage und d) 10 Tage (1020  $\mu\text{g}$  bei 2 cm Abstand = 40,5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen: 1  $\mu\text{m}$

Die aus dieser Messreihe erhaltenen Wachsstrukturen zeigen einen gravierenden Unterschied zu den Proben, die bei 25°C in Ethanol dampf rekristallisierten. Zum ersten sind schon ab dem ersten Tag große Schuppen (bis zu 2  $\mu\text{m}$  Seitenlänge) zu sehen,

zum zweiten sind keine kleinen Schuppen mehr vorhanden und zum dritten bilden die untersten Schichten flachliegende Plättchen, die wie Inseln (Kantenlänge bis zu  $4\ \mu\text{m}$ ) den darauf stehenden Schuppen als Unterlage dienen. Von den Proben beider Versuchsreihen wurden auch hier die statischen Kontaktwinkel, die Hysteresen und Abrollwinkel gemessen (Tabelle 4.3).

Tabelle 4.3: Auflistung der gemessenen statischen Kontaktwinkel, der Hysteresen und der Abrollwinkel mit Standardabweichung bei Octacosanolschuppen, welche bei 25 oder 50°C in Gegenwart von Ethanol dampf rekristallisierten (Mittelwerte von jeweils 10 Messungen), Abrollwinkel unter 3° waren nicht exakt messbar

Probe	Statischer KW (°)	Hysterese (°)	Abrollwinkel (°)
25°C 1 Tag	$163,38 \pm 1,96$	$9,26 \pm 0,70$	$5,45 \pm 0,48$
25°C 3 Tage	$162,91 \pm 1,80$	$7,89 \pm 0,85$	$5,08 \pm 0,56$
25°C 7 Tage	$163,65 \pm 1,04$	$7,96 \pm 0,64$	$5,24 \pm 0,80$
25°C 10 Tage	$163,30 \pm 1,58$	$8,95 \pm 0,65$	$5,03 \pm 0,33$
50°C 1 Tag	$149,93 \pm 2,21$	$40,99 \pm 3,09$	-
50°C 3 Tage	$151,44 \pm 1,48$	$40,74 \pm 2,71$	-
50°C 7 Tage	$154,26 \pm 1,79$	$39,31 \pm 1,98$	-
50°C 10 Tage	$163,56 \pm 1,02$	$6,11 \pm 0,47$	< 3

Während die Wachsstrukturen, die bei 25°C rekristallisierten, nur geringe Änderungen zwischen dem ersten und 10. Tag zeigten, sind die Sprünge, vor allem während der letzten Messtage, zwischen einzelnen Werten bei den 50°C-Proben sehr viel größer. Der statische Kontaktwinkel steigt von 149,93° (1 Tag) auf 163,56° (10 Tage), während die Hysterese von 40,99° auf 6,11° fällt. Die 10-Tage-Probe unterscheidet sich auch im Abrollwinkel, hier rollt der Tropfen schon bei weniger als 3° ab. Als Fazit dieser Messreihe stellt sich heraus, dass Ethanol bei der Rekristallisation von Wachsschuppen aus Octacosanol einen starken Einfluss auf die Bildung der ersten Wachsstrukturen bei 25°C hat. Bei 50°C ist Ethanol eher als hemmender Faktor zu bezeichnen. Der erste statische Kontaktwinkel nach einem Tag liegt ca. 13,5° unter dem gemessenen bei einer Lagertemperatur von 25°C. Zudem sind die Kontaktwinkel der 25°C-Proben im

allgemeinen höher und der Tropfen rollt schon nach einem Tag Rekristallisation ab.

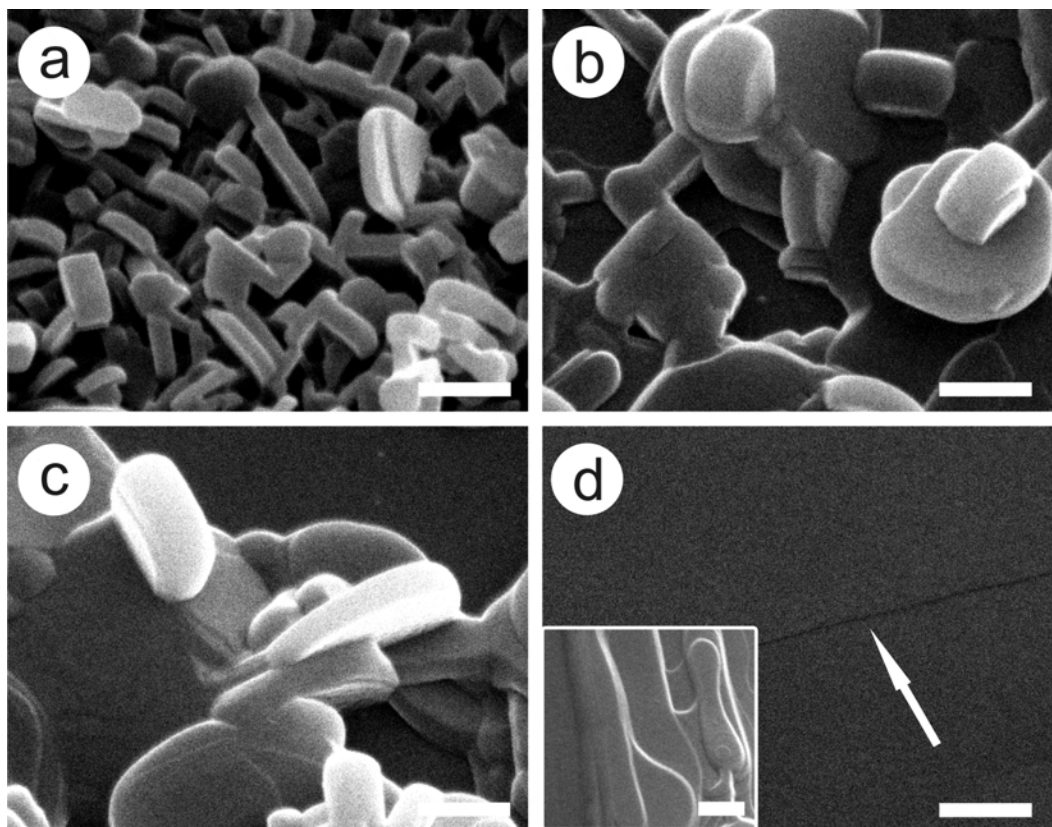


Abbildung 4.11: Rekristallisierte Wachse aus Hentriacontan-16-on, einen Tag aufbewahrt in einer Ethanoldampfathmosphäre bei a) 25°C und b) 50°C und in einer Chloroformatmosphäre bei c) 25°C und d) 50°C; der Ausschnitt in Abb. d) zeigt die einzelnen gebildeten Schichten des Ketons ( $1040 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $41,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen:  $1 \mu\text{m}$

Die bisherigen Messreihen zeigten einen Einfluss der Lösungsmittel in Kombination mit zwei definierten Temperaturen auf die Größe und Form der Wachsschuppen und in der vorherigen Messreihe den Einfluss der Temperatur, die überhaupt die Rekristallisation der gewünschten Strukturen startet. Gemeint sind die großen Schuppen beim Temperaturexperiment und bei den 50°C-Proben in Wasserdampfathmosphäre. Die bis jetzt verwendeten Lösungsmittel haben einen Einfluss auf Form und Größe der Octacosanolschuppen sowie deren Formtyp (Vergleich z.B. Abbildung 4.7 mit kleinen,

aufeinander wachsenden Schuppen und 4.10 mit großen runden Schuppen).

Um eine genauere Aussage über deren Wirkung auf Wachsschuppen zu treffen, wurden in einem Einzelexperiment Schuppen aus Hentriacontan-16-on rekristallisiert. Die Proben wurden mit  $1040 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand bedampft, was einer Bedeckung von  $41,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  entspricht. Als Lösungsmittel während der Selbstorganisation wurde Ethanol und in einer Parallelprobe Trichlormethan (Chloroform) verwendet. Es wurden die gleichen Rekristallisationstemperaturen wie zuvor ( $25$  und  $50^\circ\text{C}$ ) ausgewählt, jedoch wurde die Dauer auf einen Tag begrenzt, da sich bisher gezeigt hat, dass sich zu dem Zeitpunkt schon Schuppen auf der Oberfläche bei Octacosanol befanden. Abbildung 4.11 zeigt die Ethanol- (a und b) und die Chloroformproben (c und d) bei jeweils  $25^\circ\text{C}$  und  $50^\circ\text{C}$ .

Die Wachsstrukturen in Abbildung 4.11 (a) ähneln den Octacosanolschuppen, die bei  $25^\circ\text{C}$  mit Hilfe von Ethanol nach drei Tagen rekristallisierten. Zu sehen sind viele, bis zu  $1 \mu\text{m}$  breite, nahezu senkrecht stehende Schuppen. Die  $50^\circ\text{C}$ -Probe (4.11 (b)) weist Merkmale der Octacosanolprobe, die bei  $50^\circ\text{C}$  in Gegenwart von Ethanol aufbewahrt wurde. Auf mehreren flach liegenden Inseln sind einzelne dicke Schuppen zu sehen. Sie haben die gleiche Breite wie die Schuppen der  $25^\circ\text{C}$ -Probe, allerdings sind sie etwa doppelt so dick. Die mit Hilfe von Chloroform bei  $25^\circ\text{C}$  rekristallisierten Schuppen stehen ebenfalls senkrecht auf flach liegenden Wachsplättchen (4.11 (c)). Sie haben jedoch mit  $2 \mu\text{m}$  die doppelte Breite der Schuppen der Ethanolproben, zudem sind sie auf der Oberseite viel stärker abgerundet. Die vierte Probe, die mit Hilfe von Chloroformdampf bei  $50^\circ\text{C}$  rekristallisierte, zeigt ein ganz anderes Bild als die Proben zuvor. Es haben sich keine dreidimensionalen Strukturen, sondern nur eine sehr flache Wachsschicht gebildet. Dieser ebene Film weist an einigen Stellen (siehe Pfeil) Übergänge zur nächsten Schicht auf, was für einen mehrere Lagen dicken Aufbau spricht. Dieser Schichtenaufbau wird an einigen wenigen Fehlstellen sichtbar, wie es der Bildausschnitt in Abbildung 4.11 (d) zeigt. Dieser Versuch zeigt, dass bestimmte Lösungsmittel einen entscheidenden Einfluss auf die Wachsstrukturen haben können.

### 4.2.3 Substrateinfluss

Schon im vorherigen Kapitel wurde der Begriff „Substrateinfluss“ mehrfach in Verbindung mit HOPG und Glas verwendet. Allerdings war eine genaue Untersuchung dieses Effekts durch den hohen Bedeckungsgrad der Substrate durch Wachs nicht exakt möglich. Die Ausbildung der unter den Wachsstrukturen befindlichen Wachsschichten kann einen Substrateffekt abschwächen oder, ab einer bestimmten Dicke, sogar unterdrücken. Folglich wurden die aufgedampften Wachsmengen reduziert (genaue Angaben in der Beschreibung der einzelnen Proben). Neben der REM wurde auch die Rasterkraftmikroskopie (AFM) genutzt, um die „Wachsinseln“ bzw. die unter den Strukturen befindlichen Wachsschichten sichtbar zu machen. Die Rasterkraftaufnahmen wurden notwendig, da die Visualisierung mittels REM selbst bei einer Kippung einer Probe (Octacosanolschuppen auf Silizium (100)) von  $45^\circ$  keine wirklichen Erkenntnisse über die Wachsschicht erbrachte (Abbildung 4.12).

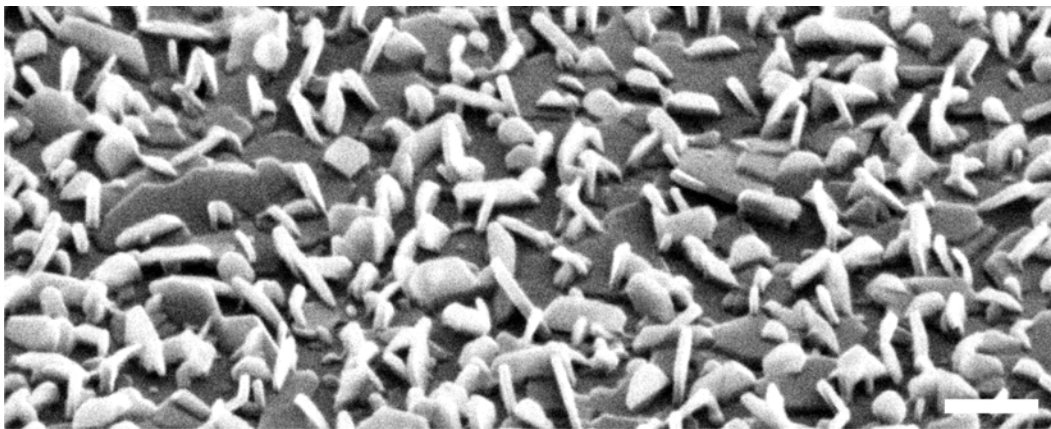


Abbildung 4.12: REM-Aufnahme von rekristallisierten Octacosanolschuppen auf Silizium nach 6 Tagen Lagerung bei  $50^\circ\text{C}$  ohne Lösungsmittel ( $1010\ \mu\text{g}$  bei  $2\ \text{cm}$  Abstand  $= 40,2\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ );  $45^\circ$  Kippung der Probe; Skala:  $1\ \mu\text{m}$

Die Abbildung 4.12 zeigt Schuppen, die im Winkel von  $80$  bis  $90^\circ$  zur Oberfläche nach 6 Tagen bei  $50^\circ\text{C}$  rekristallisierten. Umrisse und Ränder der darunterliegenden Schicht zeigen mehrschichtige Wachsinseln, die an einigen Stellen sich sogar leicht von

der Oberfläche lösen. Die Anzahl der Schichten lässt sich aber nicht feststellen. Abbildung 4.13 zeigt die gleichen Schuppen auf demselben Substrat, allerdings wurden hier zwei verschiedene Bedampfungsmengen, die beide deutlich unter der der vorherigen Probe waren, verwendet (a):  $2,48 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und (b):  $0,62 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). In den Bereichen, in denen sich keine Schuppen gebildet haben, kann die AFM-Nadel bis zu den tieferliegenden flachen Schichten vordringen und sie sichtbar machen. In der rechten Aufnahme sind dank der geringen Wachsmenge sogar die einzelnen Schichten zu erkennen. Bis zu vier Schichten bilden die Unterlage für die Schuppen, auch wenn einige Schuppen schon auf der ersten oder zweiten Lage rekristallisierten.

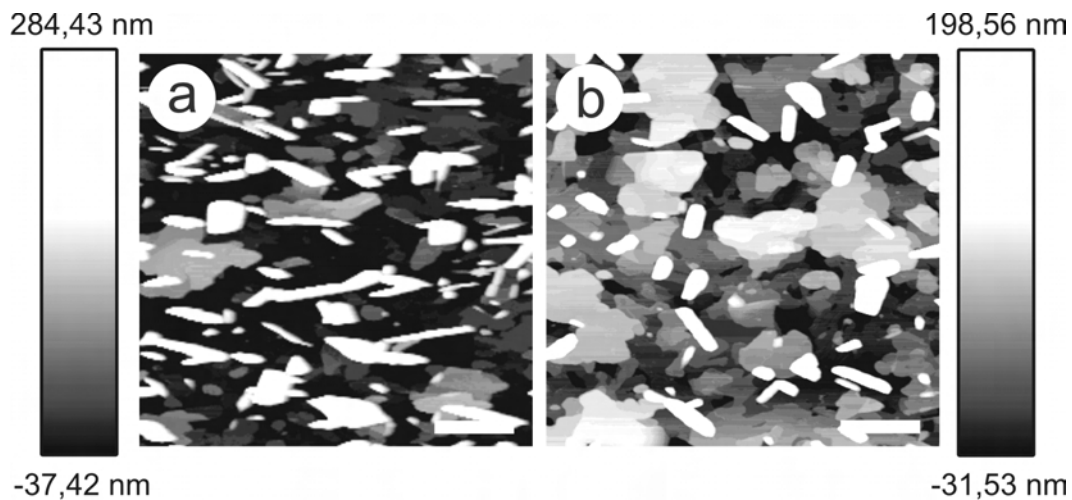


Abbildung 4.13: Aufnahmen mittels AFM von rekristallisierten Octacosanolschuppen auf Silizium nach 6 Tagen a)  $250 \mu\text{g}$  bei  $4 \text{ cm}$  Abstand =  $2,48 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ; b)  $250 \mu\text{g}$  bei  $8 \text{ cm}$  Abstand =  $0,62 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ; Skalen:  $0,5 \mu\text{m}$ , jeweilige Bildbreite:  $5 \mu\text{m}$

Auf Siliziumoxid zeigt sich der Substrateffekt durch ein parallel zur Oberfläche ausgerichtetes Wachstum von Wachsschichten. Wachsschuppen hingegen rekristallisieren senkrecht, aber ohne eine Vorzugsrichtung, auf den flachen Wachsinseeln, d.h. der Substrateffekt muss durch mehrlagiges Inselwachstum erst kompensiert werden, um Schuppen auf dem polaren Siliziumoxid zu erhalten (siehe auch Abbildung 2.7). Um diese Phänomene zu umgehen, wurden Experimente mit HOPG als unpolares Substrat mit hexagonaler Ordnung durchgeführt. Die AFM-Abbildung 4.14 zeigt Schuppen nach

einem Tag Rekristallisation bei 25°C auf HOPG. Die kurze Dauer und niedrige Temperatur verlangsamen die Selbstorganisation. Die AFM-Nadel kann dadurch die Oberfläche exakt abtasten, da sie bei hohen, eng stehenden Objekten den Untergrund nicht erreichen würde. Die Probe weist, neben einer gleichmäßigen Verteilung der Schuppen, keinerlei Inselbildung auf. Die hexagonale Kristallstruktur des Substrats hat sich auf die Ausrichtung der Schuppen übertragen (Epitaxie). Die einzelnen Domänen mit parallel angeordneten Wachsstrukturen zeigen eine 120°-Rotation zu angrenzenden Bereichen.

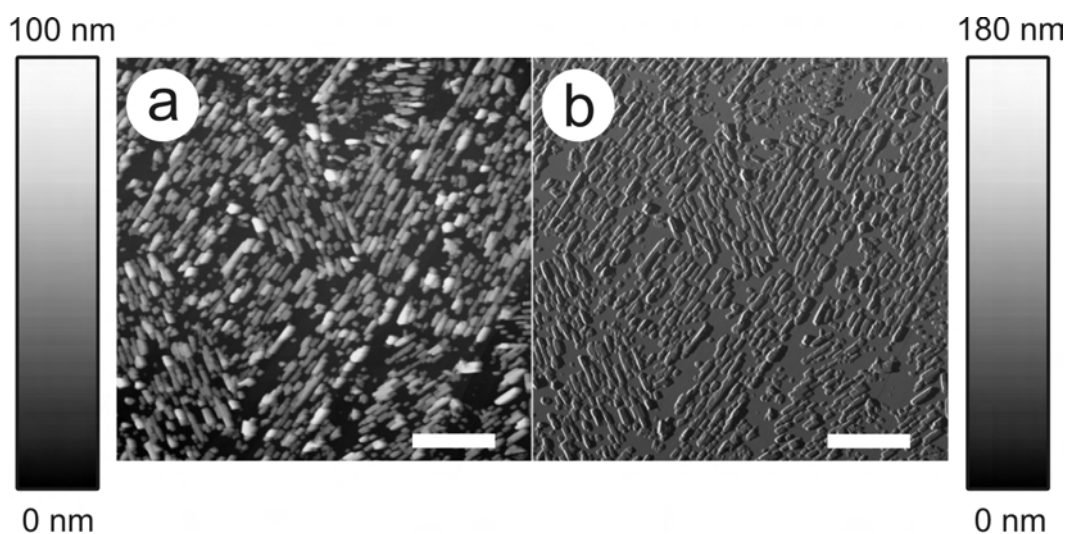


Abbildung 4.14: AFM-Aufnahmen von rekristallisierten Octacosanolschuppen auf HOPG nach 1 Tag: a) Höhenbild (height image); b) Regelsignalbild (deflection image); 400  $\mu\text{g}$  bei 4  $\text{cm}$  Abstand = 4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ; Skalen: 2  $\mu\text{m}$

Der von Siliziumoxid ausgehende Substrateffekt sollte den gleichen Effekt auf Palmitonschuppen wie auf Octacosanolschuppen haben. Dazu wurden geringe Mengen von 200  $\mu\text{g}$  Hentriacontan-16-on (Palmiton) bei einem Abstand von 8  $\text{cm}$  aufgedampft, was zu einer Bedeckung von 0,50  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  führte. Anschließend wurde diese Probe im AFM untersucht. Abbildung 4.15 zeigt bei Octacosanol eine Rekristallisation in Form von Inseln, deren Rand grob-dendritisch geformt ist. Diese Inseln weisen an manchen Stellen bis zu drei Schichten auf. Die wenigen gebildeten Schuppen befinden sich *alle* auf diesen Schichten und stehen senkrecht zur Ebene. Diese Eigenschaft haben die Palmitonpro-



ben mit den Octacosanolproben auf Silizium gemeinsam. Den großen Unterschied findet man bei der Betrachtung der Anordnung der Schuppen zueinander. Sie bilden Gruppen von Parallelreihen und diese stehen wiederum im  $120^\circ$ -Winkel zueinander angeordnet. Das deutet auf eine hexagonale Anordnung hin, welche nicht vom Substrat, sondern von den Wachsinseln ausgeht, da diese den Einfluss des Siliziumoxids überdecken.

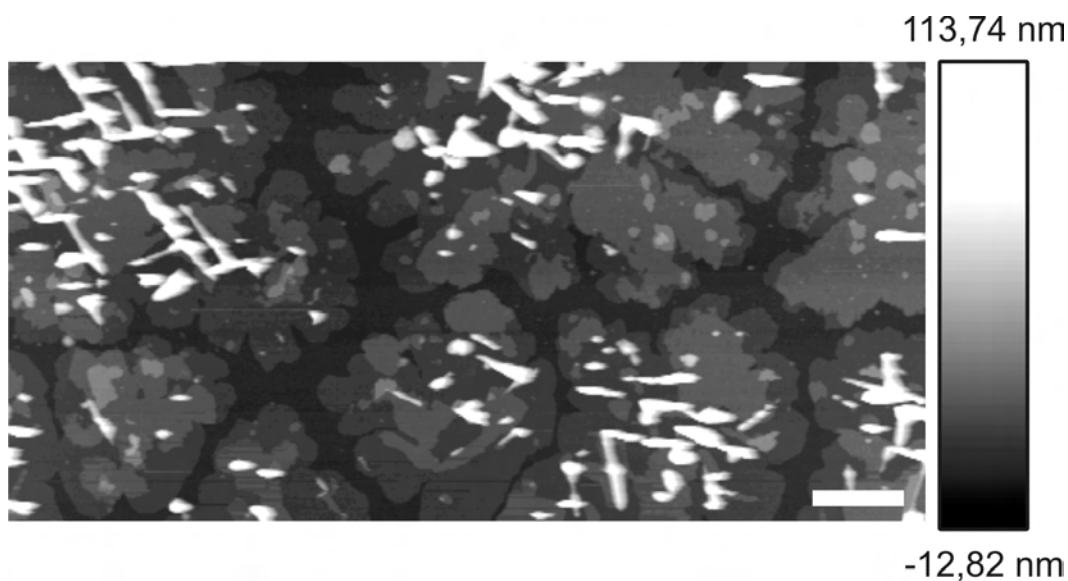


Abbildung 4.15: Ausschnitt einer AFM-Aufnahme von rekristallisierten Palmitonschuppen auf Silizium nach 1 Tag (Aufdampfung von  $200 \mu g$  Palmiton bei einem Abstand von  $8 \text{ cm} = 0,50 \mu g/cm^2$ ); Skala:  $1 \mu m$

### 4.3 Wachsröhrchen

Die zweite untersuchte Wachsstruktur sind die Nonacosanolröhrchen, welche von der Blattoberfläche von *Tropaeolum majus* L. in großer Menge extrahiert wurden. Der Begriff *Tropaeolum majus*-Wachs wird in diesem und folgendem Kapitel der Einfachheit halber als Tm-Wachs oder auch Nonacosanolwachs bezeichnet. Das Kapitel befasst sich zuerst mit der Rekristallisation der Wachsröhrchen ohne und dann mit Lösungsmittel bei jeweils  $25$  und  $50^\circ\text{C}$ . Als letzter Punkt wird der temperaturgesteuerte Rekristallisationsprozess als Messreihe von  $25$  bis  $50^\circ\text{C}$  in  $5^\circ\text{C}$ -Schritten gezeigt. Um eine bessere

Vergleichbarkeit der Benetzungseigenschaften aufzuzeigen, kommt bei diesen Versuchen zu einer tabellarischen auch noch eine graphische Aufstellung der Kontaktwinkeldaten hinzu; die graphischen Darstellungen zeigen hierbei besonders deutlich die Veränderungen in der Rekristallisationskinetik und den Benetzungsdaten in Abhängigkeit von Temperatur und Zeit.

### 4.3.1 Temperatureinfluss

Bei der in dieser Arbeit gezeigten Selbstorganisation zeigt sich der Temperatureinfluss in der Rekristallisationsgeschwindigkeit, d.h. in der benötigten Aktivierungsenergie, um den Prozess überhaupt zu starten. Um das Strukturwachstum mit dem Faktor Temperatur in Verbindung zu setzen, musste man sich von den zuvor gezeigten „Ein-Komponenten-Systemen“ Octacosanol- und Hentriacontanonschuppen trennen, da diese auch schon bei Raumtemperatur die Selbstorganisation starten. Da Wachsröhrchen komplexer und aus mindestens zwei Komponenten (vor allem Nonacosanol und Nonacosan-4,10-diol) aufgebaut sind, benötigen sie auch eine höhere Temperatur als Aktivierungsenergie (siehe dieses Kapitel und Messreihe mit 5°C-Temperaturschritten weiter unten). Die langsame Selbstorganisation ermöglicht das Erfassen einzelner Rekristallisationsstufen, von Röhrchenansätzen über einzelne ausgebildete Röhrchen bis zu vollständig ausgebildeten Röhrchen.

Die Auftragung der Wachse für die Rekristallisation erfolgte mittels thermischer Wachsaufdampfung (siehe Kapitel 2.7.4). Wachsmengen von 1020  $\mu\text{g}$  an Tm-Wachs wurden auf Glas aufgedampft und bei 25 oder 50°C 7 Tage in Trockenschränken aufbewahrt. Abbildung 4.16 zeigt zwei REM-Bilder der Proben direkt nach der Aufdampfung. Die Aufdampfungstemperatur war bei Bild (b) um ca. 20-30°C höher als bei Bild (a). Die granulären Strukturen bei (b) sind zwar homogen über die Oberfläche verteilt, haben allerdings keine Ähnlichkeit mit Röhrchen, im Gegensatz zu den ersten Röhrchenansätzen bei (a). Dort sind erste Röhrchenansätze sichtbar. Da sich bei der Aufdampfung auch die Probe über dem Heizelement geringfügig erwärmt, d.h. die

Temperatur liegt für weniger als 1 Minute bei etwa  $40^{\circ}\text{C}$ , kann dieser Temperaturunterschied einen Einfluss auf die ersten Umordnungsprozesse auf der Oberfläche haben und solche Strukturen bilden, die beim Abkühlen erstarren und nicht weiter rekristallisieren. Um die Rekristallisation im Anfangsstadium möglichst wenig zu beeinflussen, wurden als Proben die weniger stark erhitzten Wachse (Abbildung 4.16 (a), Heizelementtemperatur bis max  $140^{\circ}\text{C}$ ) genommen. Bei dieser Temperatur erfolgt keine thermische Zersetzung der Wachskomponenten (siehe Kapitel 4.1). Die Gesamtkristallisationsdauer betrug 7 Tage, die Proben wurden nach 1, 6, 15, 24, 72 und 168 Stunden zuerst auf ihre Benetzungseigenschaften überprüft, bevor sie mit Gold besputtert und im REM untersucht wurden. Die zum Anfang gewählten kürzeren Intervalle sollen einen besseren Einblick in die ersten Rekristallisationsprozesse geben.

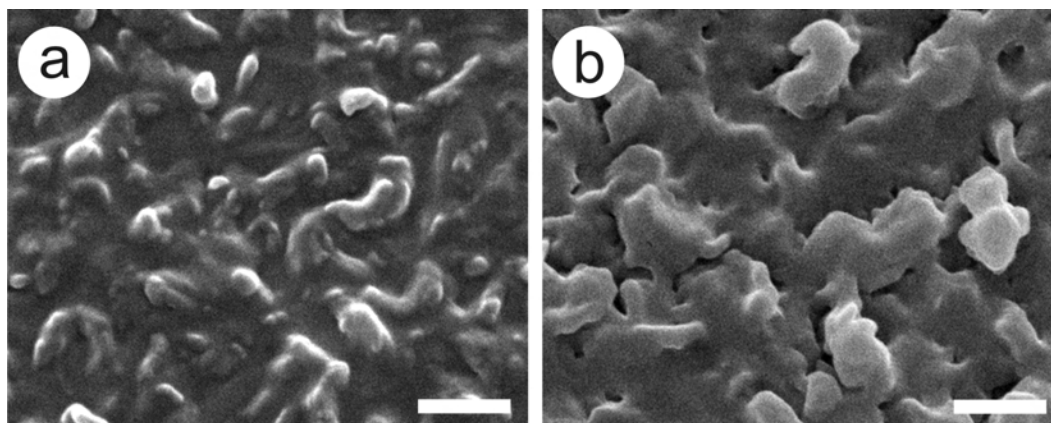


Abbildung 4.16: *Tropaeolum majus*-Röhrchenwachs auf Glas sofort nach Aufdampfung, a) Heiztemperatur bis maximal  $140^{\circ}\text{C}$ ; b) Heiztemperatur bis ca.  $160 - 170^{\circ}\text{C}$  ( $1020 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $40,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen:  $1 \mu\text{m}$

Abbildung 4.17 zeigt die einzelnen Bildungsstadien der Röhrchen nach 24 h (a), 72 h (b) und 168 h (c) bei  $25^{\circ}\text{C}$  Lagerungstemperatur. Hier wurden keine kürzeren Intervalle gewählt, da sich aus Vorversuchen gezeigt hat, dass die Selbstorganisation der Röhrchen nach deren Aufdampfung bei  $25^{\circ}\text{C}$  nicht über das Stadium der Röhrchenansätze hinausgeht. Die thermische Strahlung des Heizelements während der Aufdampfung kann für diese Ansätze verantwortlich sein, eine nachfolgende Abkühlung

auf Raumtemperatur hemmt die Selbstregeneration.

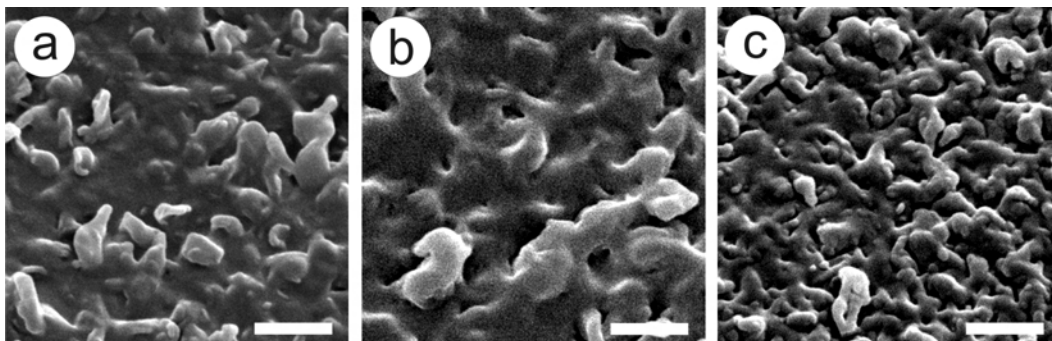


Abbildung 4.17: Aufgedampftes *Tropaeolum majus*-Röhrchenwachs auf Glas, aufbewahrt bei 25°C, nach 24 (a), 72 (b) und 168 Stunden (c) ( $1020 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand  $= 40,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen:  $1 \mu\text{m}$

Während die Proben, die bei 25°C gelagert wurden, nur minimale Veränderungen in ihren granulären, etwa 300 bis 800 nm großen Strukturen zeigen, setzt bei den 50°C-Proben die Selbstorganisation schon früh ein, und die ersten Röhrchen sind nach 6 Stunden sichtbar. Die Röhrchenbildung steigt in den nächsten Stunden stark an. Nach 72 Stunden sind die meisten Röhrchen ausgebildet und nur noch wenige kommen bis zum 7. Tag hinzu. Bei den Proben, die 168 Stunden gelagert wurden, ist ein Röhrchendurchmesser von 100 bis 200 nm und eine Länge von 700 bis 1000 nm feststellbar. Während des Rekristallisationsprozesses ist auch eine Änderung der Orientierung beobachtbar; mit fortschreitender Entwicklung sind immer mehr Wachsröhrchen in einem Winkel von 30° und mehr aufgerichtet (bei 24 h liegen die meisten Röhrchen noch, bei 168 h ist dies nicht mehr der Fall) (NIEMIETZ et al. 2009<sup>81</sup>).

Neben den REM-Aufnahmen wurden auch Benetzungsmessungen durchgeführt. Die erhaltenen Daten sind in Abbildung 4.19 graphisch dargestellt und in Tabelle 4.4 nochmals aufgelistet.

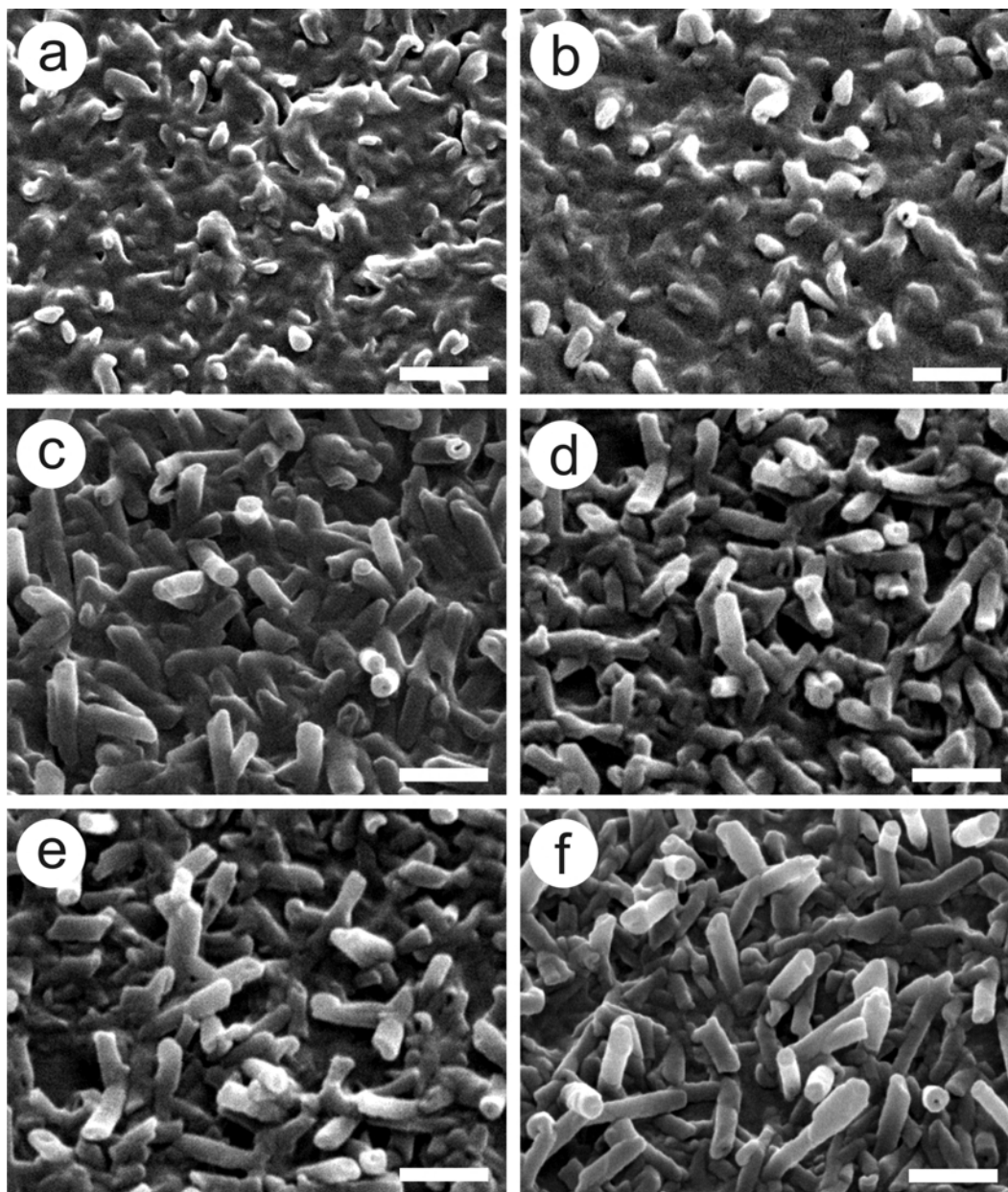


Abbildung 4.18: Rekristallisiertes *Tropaeolum majus*-Röhrchenwachs auf Glas, aufbewahrt bei 50°C, nach 1 (a), 6 (b), 15 (c), 24 (d), 72 (e) und 168 Stunden (f) ( $1020 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $40,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen:  $1 \mu\text{m}$

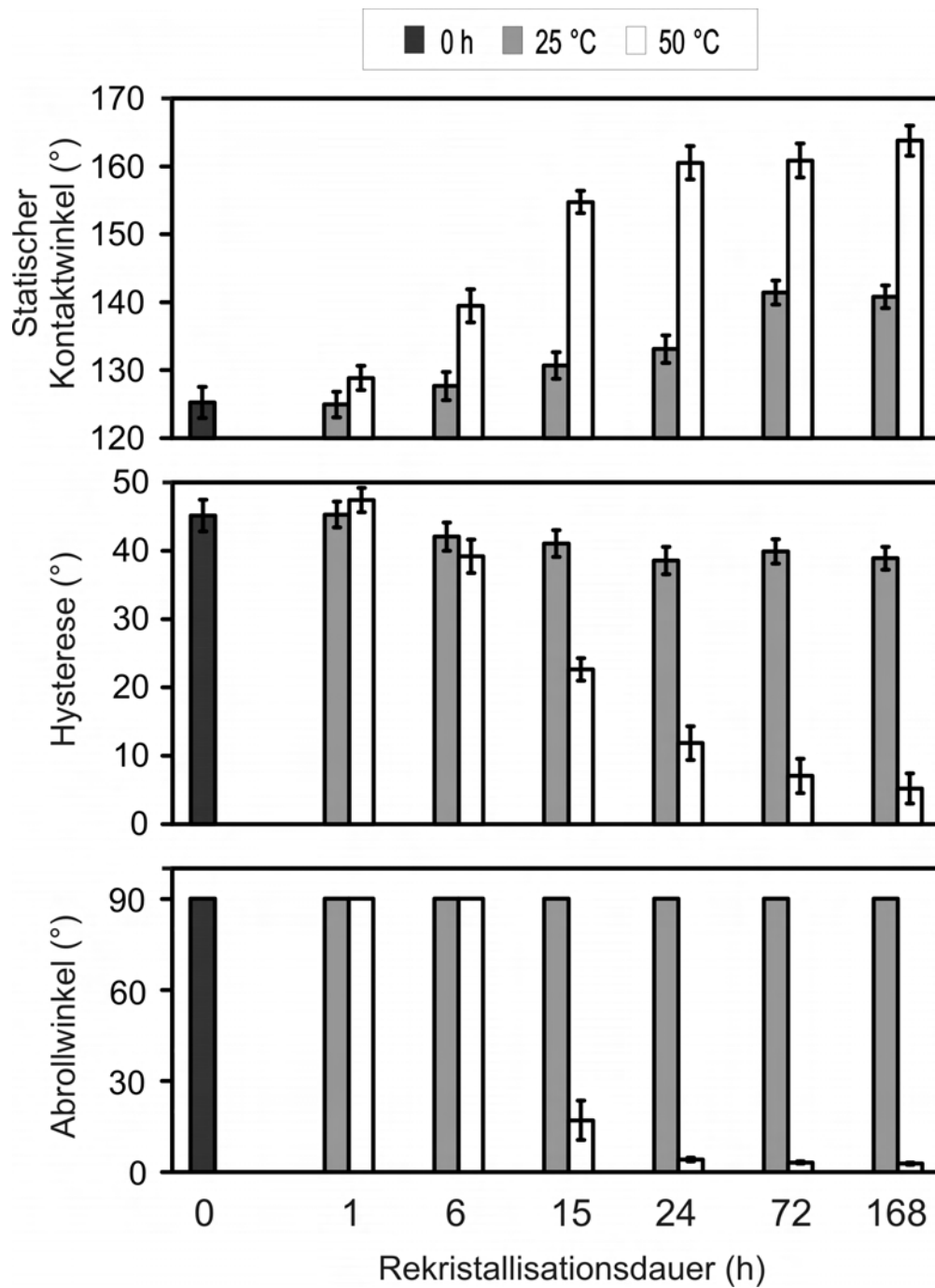


Abbildung 4.19: Messergebnisse der Benetzungsmessungen (Statischer Kontaktwinkel, Hysterese und Abrollwinkel) von rekristallisierten Wachsrohrchen in Abhängigkeit von Temperatur und Zeit, schwarz: Messung direkt nach Bedampfung; grau: bei 25°C gelagert; weiß: bei 50°C gelagert

Tabelle 4.4: Auflistung der gemessenen statischen Kontaktwinkel, der Hysteresen und der Abrollwinkel bei Nonacosanolröhrchen, welche bei 25 oder 50°C rekristallisierten (Mittelwerte von jeweils 10 Messungen)

Probe	Statischer KW (deg)	Hysterese (deg)	Abrollwinkel (deg)
0 h	$125,2 \pm 2,3$	$45,2 \pm 2,8$	-
25°C 1 h	$124,9 \pm 1,9$	$45,3 \pm 2,1$	-
25°C 6 h	$127,7 \pm 2,0$	$42,0 \pm 1,2$	-
25°C 15 h	$130,7 \pm 1,9$	$41,1 \pm 1,5$	-
25°C 24 h	$133,7 \pm 2,0$	$38,6 \pm 2,1$	-
25°C 72 h	$141,4 \pm 1,7$	$39,9 \pm 1,2$	-
25°C 168 h	$140,8 \pm 1,6$	$38,9 \pm 1,1$	-
50°C 1 h	$128,8 \pm 1,8$	$47,4 \pm 1,6$	-
50°C 6 h	$139,5 \pm 2,5$	$39,2 \pm 2,2$	-
50°C 15 h	$154,7 \pm 1,6$	$22,7 \pm 1,8$	$14,7 \pm 4,3$
50°C 24 h	$160,5 \pm 2,5$	$11,9 \pm 1,1$	$\approx 4$
50°C 72 h	$160,9 \pm 2,5$	$7,1 \pm 0,6$	$\approx 3$
50°C 168 h	$163,8 \pm 2,2$	$5,2 \pm 0,7$	$< 3$

Die Kontaktwinkeldaten zeigen zwei unterschiedliche Benetzungsverhalten an. Während die bei 25°C gelagerten Proben innerhalb von 168 Stunden eine Zunahme beim statischen Kontaktwinkel von ca. 15° haben (von 124,9 auf 140,8°) und keiner der Tropfen abrollt, zeigen die bei 50°C gelagerten Proben eine Zunahme von etwa 39° beim statischen Kontaktwinkel und eine Abnahme der Hysterese von 47,4 auf 5,2°. Nach einer Rekristallisationsdauer von 15 Stunden sind diese Werte im Bereich der Superhydrophobie (Kontaktwinkel  $\geq 150^\circ$ ), und der Tropfen rollt zum ersten Mal von der Oberfläche. Die Änderungen nach den ersten 24 Stunden sind im Bereich des statischen Kontaktwinkels gering, während sich die Hysterese auf 5,2° reduziert und der Abrollwinkel auf weniger als 3° abnimmt.

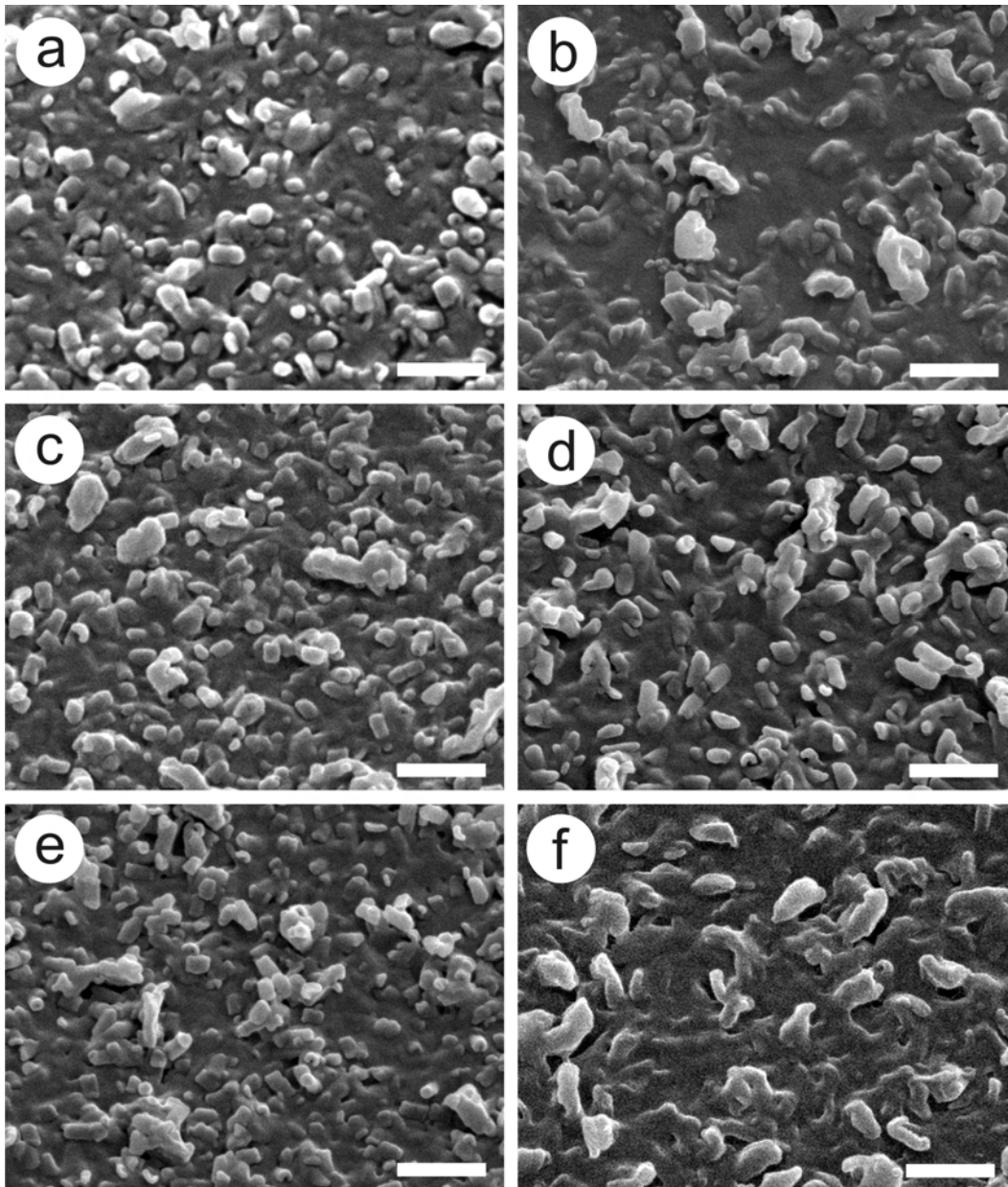


Abbildung 4.20: Aufgedampftes *Tropaeolum majus*-Röhrchenwachs auf Glas, aufbewahrt bei 30°C, nach 1 (a), 3 (c) und 7 Tagen (e) und bei 35°C, nach 1 (b), 3 (d) und 7 Tagen (f) ( $1000\text{ }\mu\text{g}$  bei  $2\text{ cm}$  Abstand =  $39,8\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen:  $1\text{ }\mu\text{m}$

Die bisher gezeigten Experimente bezogen sich immer auf zwei feste Rekristallisationstemperaturen, 25 und 50°C. Die Frage, die sich daraus ergibt, ist, wie verläuft die Selbstorganisation in den dazwischenliegenden Temperaturintervallen ab? Dazu wur-



den mehrere mit Röhrchenwachs bedampfte Proben auch bei 30, 35, 40 und 45°C für 1, 3 und 7 Tage aufbewahrt. Der Fortschritt der Rekristallisation bei 30 und 35°C ist in Abbildung 4.20, der bei 40 und 45°C in Abbildung 4.21 zu sehen.

Die Proben, die bei 30°C gelagert wurden, zeigen nur geringe Unterschiede zu den 25°C-Oberflächen. Während die Wachsstrukturen nach 1 Tag (a) wiederum eine granuläre Struktur aufweisen, zeigen sich nach 3 (c) und 7 Tagen (e) erste Röhrchenansätze in Form von sehr kurzen (100 bis 200 nm) mit jeweils einer Öffnung versehenen Ringen. Der Großteil der Strukturen besitzt jedoch weiterhin granulären Charakter. Bei den 35°C-Proben ist die Entwicklung ähnlich. Erst nach 3 Tagen (d) sind die ersten Röhrchenansätze sichtbar. Ihre Dimensionen entsprechen denen der 30°C-Proben. Probe (f) zeigt nach 7 Tagen nur noch in geringem Maße Röhrchenbildung. Die Abweichung in der Röhrchenbildung ist darauf zurückzuführen, dass zum Einen für jede Lagerungsdauer eine neue Probe genommen werden musste, da die Proben mit Gold besputtert wurden (zwecks besserem Kontrast im REM) und somit eine Dokumentation der Rekristallisation von ein und derselben Probe unmöglich ist. Zum Anderen befinden sich die Proben bei 30 und 35°C in einem Temperaturbereich, wo kleinste Änderungen der Parameter das Wachstum hemmen oder beschleunigen können. Proben bei 40 und 45°C zeigen schon verstärktes Strukturwachstum (Abbildung 4.21). Hier ist die thermische Energie hoch genug, um die Selbstorganisation in Gang zu setzen.

Nach einem Tag (a) sind kleine Röhrchenansätze, die etwa der doppelten Länge derer bei 30°C entsprechen (etwa 200 bis 350 nm), zu beobachten. Die Rekristallisation auf der 3 Tage (c) alten Probe scheint gestoppt zu haben, es sind zwar viele Röhrchenansätze zu sehen, aber wenige Röhrchen (am Rand beim Skalabalken). Nach 7 Tagen (e) sind die ersten nahezu ausgebildeten Röhrchen zu sehen. Ihre Länge und Anzahl ist noch nicht mit den Röhrchen der 50°C-Proben gleich.

Die größte Ähnlichkeit mit den bei 50°C rekristallisierten Röhrchen haben die Wachsstrukturen bei 45°C (Abbildung 4.21 b, d, f). Nach 1 Tag bei 45°C (b) sind nicht nur Ansätze, sondern fast vollständig ausgebildete Röhrchen zu sehen. Ihre Länge beträgt etwa 500 bis 700 nm und es sind zahlreiche Röhrchenöffnungen an deren

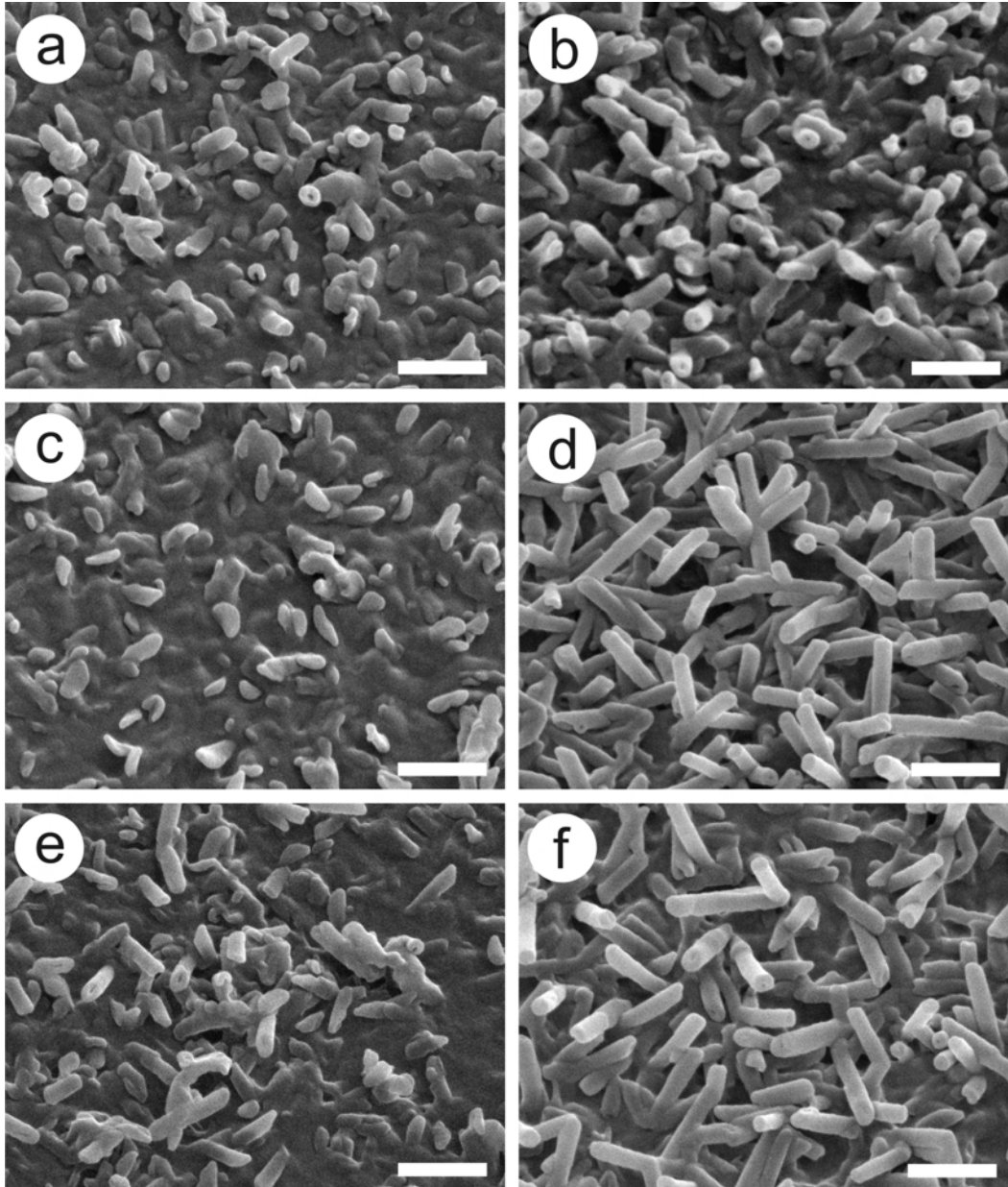


Abbildung 4.21: Aufgedampftes *Tropaeolum majus*-Röhrchenwachs auf Glas, aufbewahrt bei 40°C, nach 1 (a), 3 (c) und 7 Tagen (e) und bei 45°C, nach 1 (b), 3 (d) und 7 Tagen (f) ( $1010 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $40,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen:  $1 \mu\text{m}$

Enden wahrnehmbar. Die Proben (d) und (f) (nach 3 und 7 Tagen Rekristallisation) zeigen schon vollständig ausgebildete Röhrchen, die die gesamte Oberfläche homogen bedecken. Deren Länge entspricht mit 700 bis 1100 *nm* der der Röhrchen, die bei 50°C rekristallisieren.

Neben einer rein visuellen Dokumentation des Rekristallisationsfortschritts wurde zusätzlich eine Auszählung der sich bildenden und gebildeten Röhrchen durchgeführt. Mit Hilfe dieser erhaltenen Werte ist es möglich, unter Berücksichtigung der Temperatur und Zeit erste Aussagen zur Diffusionsenergie (Oberflächen- und Volumendiffusionsenergie) des kinetischen Prozesses selbst zu machen.

Tabelle 4.5 zeigt die Anzahl der Röhrchen bei Rekristallisationstemperaturen von 40, 45 und 50°C nach 1, 3 und 7 Tagen. Alle Auszählungen wurden je zweimal an zwei REM-Bildern gleicher Vergrößerung (10000x) wiederholt. Als Röhrchen sind auch nicht vollständig ausgebildete Röhrchenansätze und flach liegende Strukturen, die Röhrchenstruktur haben, gezählt worden.

Tabelle 4.5: Aufstellung der Anzahl an rekristallisierten Röhrchen in Abhängigkeit von Zeit (1, 3 und 7 Tage) und Temperatur (40, 45 und 50°C)

Kristallisationszeit [Tage]	Temperatur [°C]	Röhrchenanzahl [ $\emptyset$ ]
1	40	40,50 $\pm$ 5,32
	45	154,50 $\pm$ 11,62
	50	151,25 $\pm$ 9,95
3	40	34,50 $\pm$ 4,80
	45	227,50 $\pm$ 12,48
	50	177,75 $\pm$ 10,34
7	40	88,75 $\pm$ 7,41
	45	220,00 $\pm$ 20,05
	50	224,50 $\pm$ 7,19

Um die Aktivierungsenergie für den Materialtransport der Moleküle (Diffusionsenergie  $D_E^3$ ) für die Bildung von Röhrenchen errechnen zu können, wurde der natürliche Logarithmus der erhaltenen Mittelwerte gegen den Kehrwert der Temperatur (in Kelvin) aufgetragen. Die Abbildung 4.22 zeigt diese Auftragung.

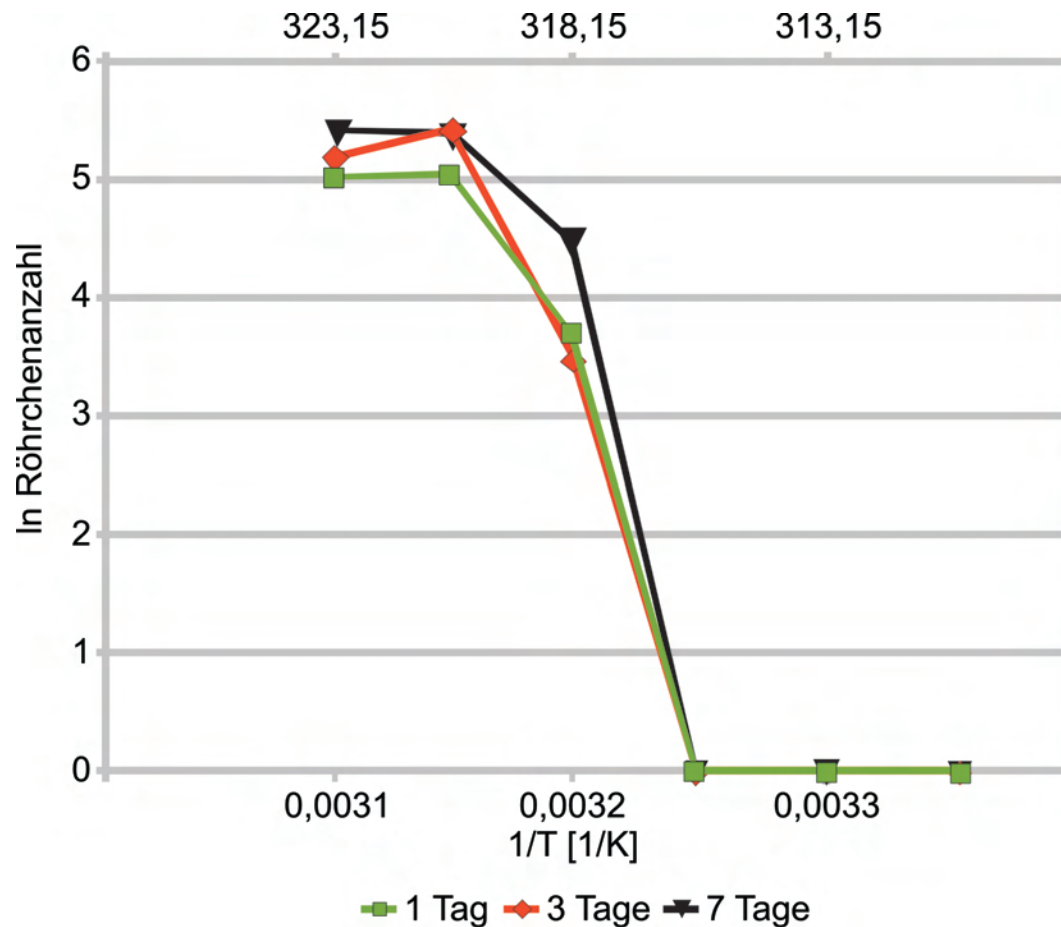


Abbildung 4.22: Auftragung des natürlichen Logarithmus der Röhrenchenzahl gegen den Kehrwert der Temperatur (Quadrat: 1 Tag; Raute: 3 Tage; Dreieck: 7 Tage)

Nach der Auftragung konnten die Regressionsgeraden (durch entsprechende Punkte der jeweiligen Datensätze, siehe Tabelle 4.6) für jede der Kurven angelegt werden

<sup>3</sup>Die Begriffe Aktivierungsenergie und Diffusionsenergie werden hier synonym benutzt. Die hier ermittelte Aktivierungsenergie ist die benötigte Energie für den Materialtransport sowohl auf der Oberfläche als auch im Volumen, daher ist sie der Diffusionsenergie gleichzusetzen.

und aus deren negativer Steigung, welche mit der negativen Gaskonstante multipliziert wurde, ließ sich die Aktivierungsenergie  $E_A$  bestimmen (Tabelle 4.6). Bei 25, 30 und 35°C konnte keine Röhrenbildung festgestellt werden, daher der Wert 0.

Tabelle 4.6: Gleichungen  $f(x)$  der Regressionsgeraden und des Bestimmtheitsmaßes ( $R^2$ ) für die Rekristallisationstemperaturen von 35 bis 45°C für 1, 3 und 7 Tage und die daraus resultierende Aktivierungsenergie  $E_A$ . 1. Datensatz = Gleichungen für 1, 3 und 7 Tage (35-45°C); 2. Datensatz = Gleichungen der Mittelwerte bei 35-45°C; 3. Datensatz = Gleichungen mit höchstem Wert bei 45°C, niedrigstem bei 40°C; 4. Datensatz = Gleichungen mit niedrigstem Wert bei 45°C, höchstem bei 40°C.

Kurve	Gleichung Regressionsgerade	Diffusionsenergie $D_E$ [J/mol]
1. Datensatz		
35-45°C		
1 Tag	$f(x) = -49532,07x + 161,11$ $R^2 = 0,94$	411809,63
Quadrat		
3 Tage	$f(x) = -53288,47x + 173,19$ $R^2 = 0,97$	443040,34
Raute		
7 Tage	$f(x) = -53060,19x + 172,76$ $R^2 = 0,88$	441142,42
Dreieck		
2. Datensatz		
Mittelwerte		
35-45°C	$f(x) = -48694,69x + 163,72$ $R^2 = 0,93$	404847,65
3. Datensatz		
höchster Wert 45°C		
niedrigster Wert 40°C	$f(x) = -53316,16x + 173,28$ $R^2 = 0,97$	443270,55
4. Datensatz		
niedrigster Wert 45°C		
höchster Wert 40°C	$f(x) = -49612,48x + 161,63$ $R^2 = 0,84$	412478,16

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte auf vier verschiedene Arten. Der erste Datensatz besteht aus den einzelnen Werten von 35, 40 und 45°C, aufgespalten nach 1, 3 und 7 Tagen. Die 50°C-Werte wurden aus der Berechnung ausgeklammert, da, wie es im Graphen 4.22 zu sehen ist, sie nahezu identisch zu den 45°C-Werten sind. Auch die Werte bei 25 und 30°C wurden wegen der Ähnlichkeit zu den 35°C-Werten aus der Berechnung herausgenommen. Die drei übrig gebliebenen Werte (35, 40 und 45°C) ergeben nach 1, 3 und 7 Tagen drei ähnliche Regressionsgeraden, aus denen sich Diffusionsenergien von 411809,63  $J/mol$  (1 Tag), 443040,34  $J/mol$  (3 Tage) und 441142,42  $J/mol$  nach 7 Tagen ergeben. Der zweite Datensatz fasst die Mittelwerte von 35 bis 45°C der drei Messtage (nach 1, 3 und 7 Tagen) zusammen. Die errechnete Diffusionsenergie liegt bei 404847,65  $J/mol$ . Im dritten Datensatz wird aus dem höchsten Wert (höchste Röhrchenanzahl, unabhängig von Rekristallisationsdauer) bei 45°C, dem niedrigsten bei 40°C und dem konstanten Wert bei 35°C (0) die Regressionsgerade und die Diffusionsenergie (443270,55  $J/mol$ ) errechnet. Der vierte Datensatz vertauscht lediglich die Werte bei 40 und 45°C, dort werden entsprechend der höchste (40°C) und niedrigste Wert (45°C) verwendet und hieraus erbog sich eine Diffusionsenergie von 412478,16  $J/mol$ .

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass nach 1 und 3 Tagen der Röhrchenzuwachs am größten ist, danach findet kein weiterer Zuwachs statt. Die aufgenommenen REM-Bilder und die Kontaktwinkelwerte bestätigen diese Feststellung. Die ermittelten Aktivierungsenergien liegen zwischen 404847,65 und 443270,55  $J/mol$ , d.h. die Abweichung des höchsten Wertes zum niedrigsten beträgt 38422,9  $J/mol$  oder 9,49%.

Es ist zu beachten, dass immer eine andere Probe, die parallel bedampft wurde, ausgewertet worden ist, da nach dem Sputtern, welches für die REM notwendig ist, die Selbstorganisation stoppt bzw gehemmt wird. Dies erklärt die Diskrepanz zwischen den Werten der 45°C-Proben, wo nach 3 Tagen mehr Röhrchen zu sehen sind als nach 7 Tagen.

### 4.3.2 Lösungsmiteleinfluss

Die Messungen haben gezeigt, dass höhere Temperaturen die Rekristallisation nach der Aufdampfung beschleunigen, bzw. im Fall von komplexeren Kristallen, wie Röhrchen, sie überhaupt starten können. Dieses Kapitel soll die Frage beantworten, ob auch Lösungsmittel einen Effekt, sei er positiv oder negativ, auf die Selbstorganisation haben. Die Versuchsdurchführung gleicht der bei der Schuppenrekristallisation verwendeten Methode (Kapitel 4.2.2). Nach der Aufdampfung des Wachses wurden vier Fraktionen gebildet, zwei wurden bei 25°C gelagert, wovon eine Ethanol-, die andere Wasserdampf ausgesetzt wurde. Die übrigen zwei Fraktionen wurden beiden Dämpfen bei 50°C ausgesetzt. Abbildung 4.23 zeigt die Ergebnisse der Rekristallisation bei 25 und 50°C in einer mit Wasser angereicherten Atmosphäre, Abbildung 4.24 den Einfluss von Ethanol dampf auf die Selbstorganisation der Wachsstrukturen bei 25 und 50°C.

Die Proben, die bei 25°C gelagert wurden, waren 1 Tag den Lösungsmitteldämpfen ausgesetzt. In diesem Zeitraum haben sich nicht nur granuläre Strukturen wie bei den Rekristallisationsexperimenten ohne Lösungsmittel gebildet, sondern auch erste Ansätze von Röhrchen. Weiterführende Rekristallisationsfortschritte konnten nach 3 und 7 Tagen nicht beobachtet werden. Die Wachsstrukturen entwickeln sich nicht zu Röhrchen weiter. Die Proben, die bei 50°C aufbewahrt wurden, zeigen allesamt Röhrchen. Deren Form und Größe entspricht den bisher rekristallisierten Röhrchen, die bei den Experimenten ohne Wasserdampf Atmosphäre entstanden. Nach 1 Tag sind die ersten Röhrchen komplett ausgebildet, deren Anzahl und Dichte verändert sich im Laufe der folgenden Tage nur gering. Das schnelle Wachstum der Wachsstrukturen während des ersten Tages spricht für einen fördernden Einfluss des Wasserdampfs auf die Rekristallisationsgeschwindigkeit.

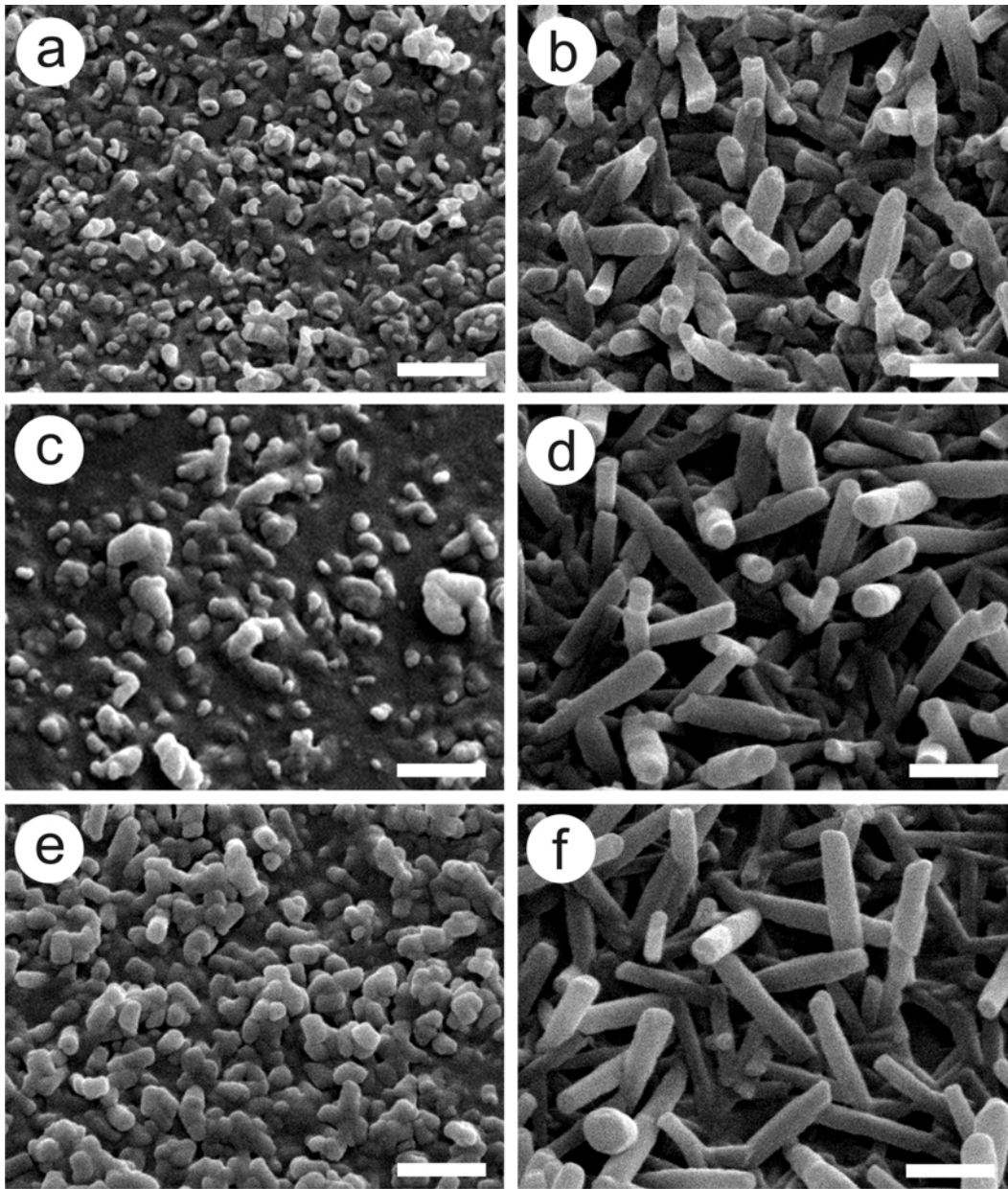


Abbildung 4.23: Aufgedampftes *Tropaeolum majus*-Röhrchenwachs auf Glas, aufbewahrt bei 25°C, nach 1 (a), 3 (c) und 7 Tagen (e) und bei 50°C, nach 1 (b), 3 (d) und 7 Tagen (f) in einer mit Wasserdampf angereicherten Atmosphäre ( $1010 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $40,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen:  $1 \mu\text{m}$



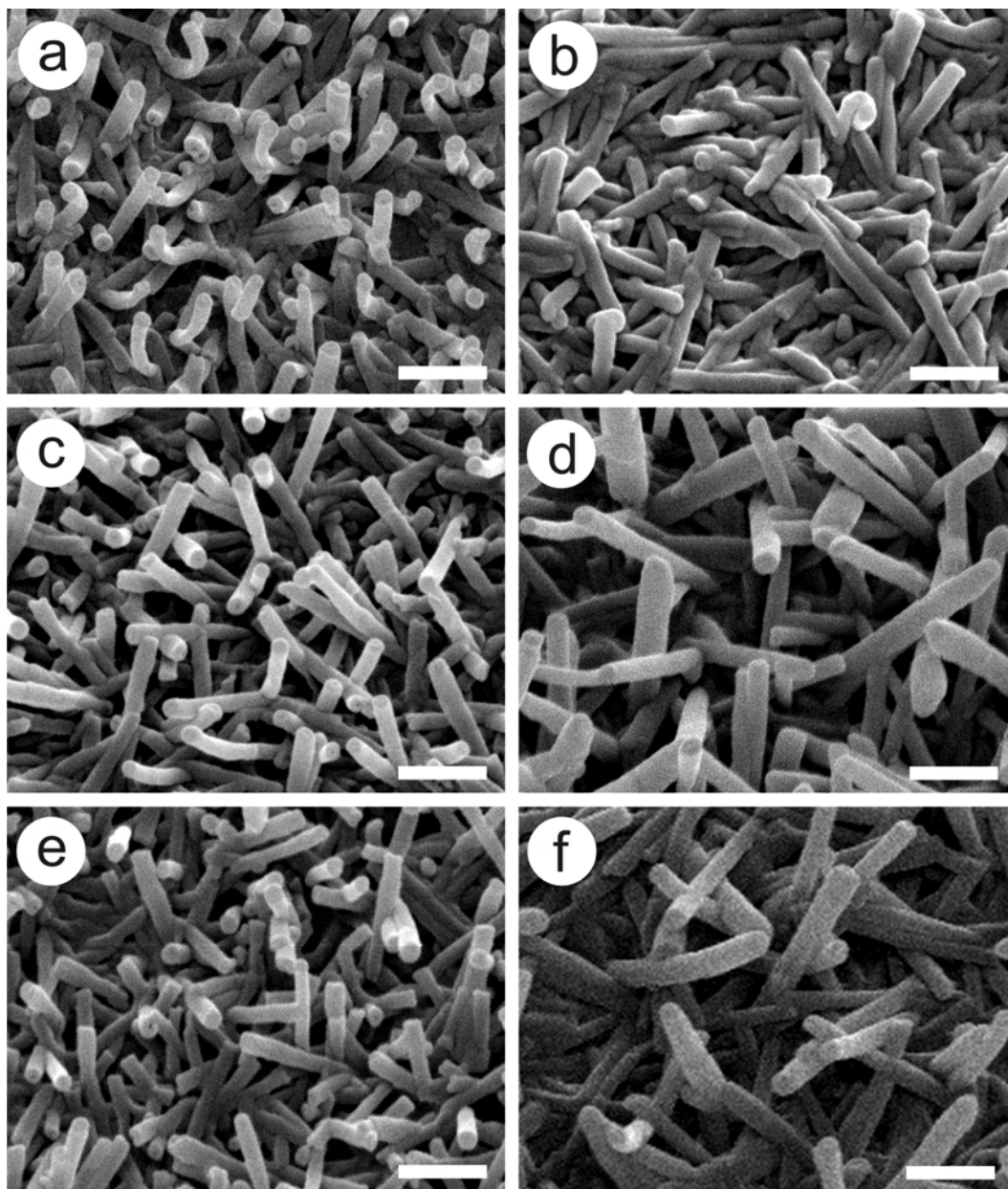


Abbildung 4.24: Aufgedampftes Röhrchenwachs auf Glas, aufbewahrt bei 25°C, nach 1 (a), 3 (c) und 7 Tagen (e) und bei 50°C, nach 1 (b), 3 (d) und 7 Tagen (f) in einer mit Ethanoldampf angereicherten Atmosphäre ( $1000 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $39,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen:  $1 \mu\text{m}$

Die in Abbildung 4.24 gezeigten Wachsröhrchen weisen wesentliche Unterschiede zu ihren Gegenstücken, die nicht in Gegenwart einer Ethanol dampfatmosphäre rekristallisiert sind, auf. Zum einen sind bei 25°C dank des Ethanol dampfs schon nach 1 Tag fast vollständig ausgebildete Röhrchen zu sehen, zum anderen ist deren Durchmesser mit etwa 150 nm nicht dem der nativen und ohne Lösungsmittel rekristallisierten Wachstrukturen gleich. Ihre Länge von 1000 nm nimmt mit der Zeit zu, sodass sie nach 3 Tagen ihre maximale Länge von bis zu 1500 nm erreichen, was ebenfalls einen kleinen Unterschied ergibt. Die entstandenen Röhrchen bei 50°C in einer Ethanolatmosphäre nehmen wiederum die Form und Größe der ohne Lösungsmittel rekristallisierten Röhrchen an. Auch hier sind innerhalb eines Tages fast vollständig ausgebildete Röhrchen zu sehen.

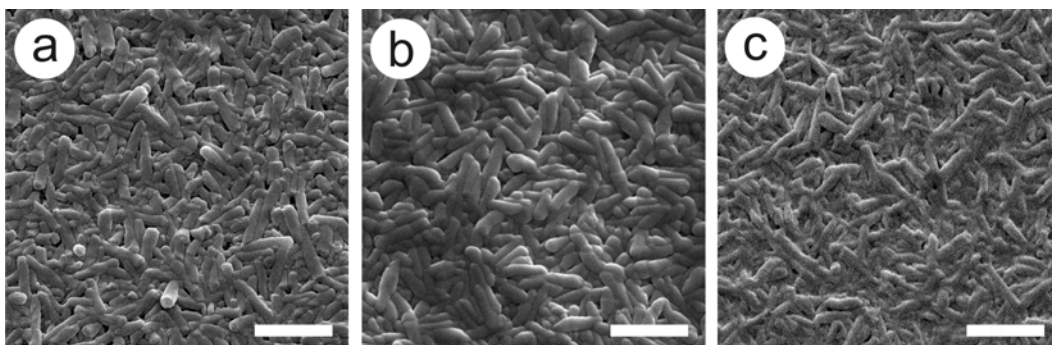


Abbildung 4.25: Aufgedampftes Röhrchenwachs auf Glas, aufbewahrt bei 50°C, nach 1 (a), 3 (b) und 7 Tagen (c). Die Proben wurden in einem gasdichten Glasfläschchen gelagert, sodass es auch zu einer Kondensation von Ethanol auf den Wachsen kam ( $1000 \mu\text{g}$  bei 2 cm Abstand =  $39,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen: 1  $\mu\text{m}$

Neben der Beobachtung, dass aufgedampftes Röhrchenwachs schon bei 25°C mit Hilfe von Ethanol dampf zur Selbstorganisation gebracht werden kann, konnten bei einigen Proben Änderungen an der Ausrichtung der Röhrchen festgestellt werden. Bei den ersten Experimenten mit Ethanol als „Katalysator“ zur Beschleunigung und/oder gar Aktivierung der Selbstorganisation wurde ein anderer Versuchsaufbau benutzt. Die bedampften Proben waren in geschlossenen Gläschen bis zu 7 Tage lang aufbewahrt,

was schließlich auch zu einer Kondensation der Dämpfe auf dem Wachs führte. Die Abbildung 4.25 zeigt den Einfluss auf die Wachsstrukturen durch das kondensierte Ethanol.

Die entstandenen Strukturen zeigen in einem Zeitfenster von 1 bis 7 Tagen kaum Unterschiede untereinander auf. Die Änderung zu den vorherigen Proben, bei denen während der Rekristallisation der Ethanoldampf entweichen konnte, ist in der Wachstumsrichtung der Strukturen zu sehen. Alle Wachsstrukturen liegen flach und bilden eine geschlossene Schicht aus Röhrchen, bei denen man die einzelnen Umrisse erkennen kann. Ethanol hat in diesem Fall die Wachstumsrichtung der Strukturen beeinflusst, aber nicht deren Form und Erscheinung.

### 4.3.3 Substrateinfluss

Neben den Rekristallisationsexperimenten von Wachsröhrchen auf Glas wurden auch einige auf HOPG durchgeführt. Dabei wurde die aufgedampfte Wachsmasse von den üblichen 1000 auf 510  $\mu\text{g}$  (entspricht einer Wachsbedeckung von 20,3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) nahezu halbiert, um sicherzustellen, dass kein Wachsfilm mit der üblichen Dicke entstehen konnte, der dann den Substrateffekt abschwächt oder sogar aufhebt. Abbildung 4.26 zeigt Röhrchen, welche nach 1 Tag bei einer Lagertemperatur von 50°C auf HOPG rekristallisierten.

Die REM-Aufnahme zeigt Unterschiede dieser Wachsröhrchen zu denen auf Glas nach 1 Tag Rekristallisation. Bis auf wenige Ausnahmen liegen die entstandenen Röhrchen oder stehen senkrecht nach oben. Durch die geringe Wachsmenge ist in den verbliebenen Lücken kein Wachsfilm zu sehen, welcher den Substrateffekt des HOPG abschwächen würde, allerdings sind zweidimensionale Filme im REM nur an Stufenkanten und Defekten zu erkennen. Durch die Aufdampfung des Gesamtwachses muss man von einer Anwesenheit eines Films ausgehen. Dieser kann für die flach angeordnete Ausrichtung verantwortlich sein. Für die senkrechte Ausrichtung der Röhrchen, die deutlich einen spiralförmigen Aufbau zeigen, muss der Substrateffekt des HOPG verantwortlich

sein (siehe auch KOCH et al. 2006<sup>58</sup>).

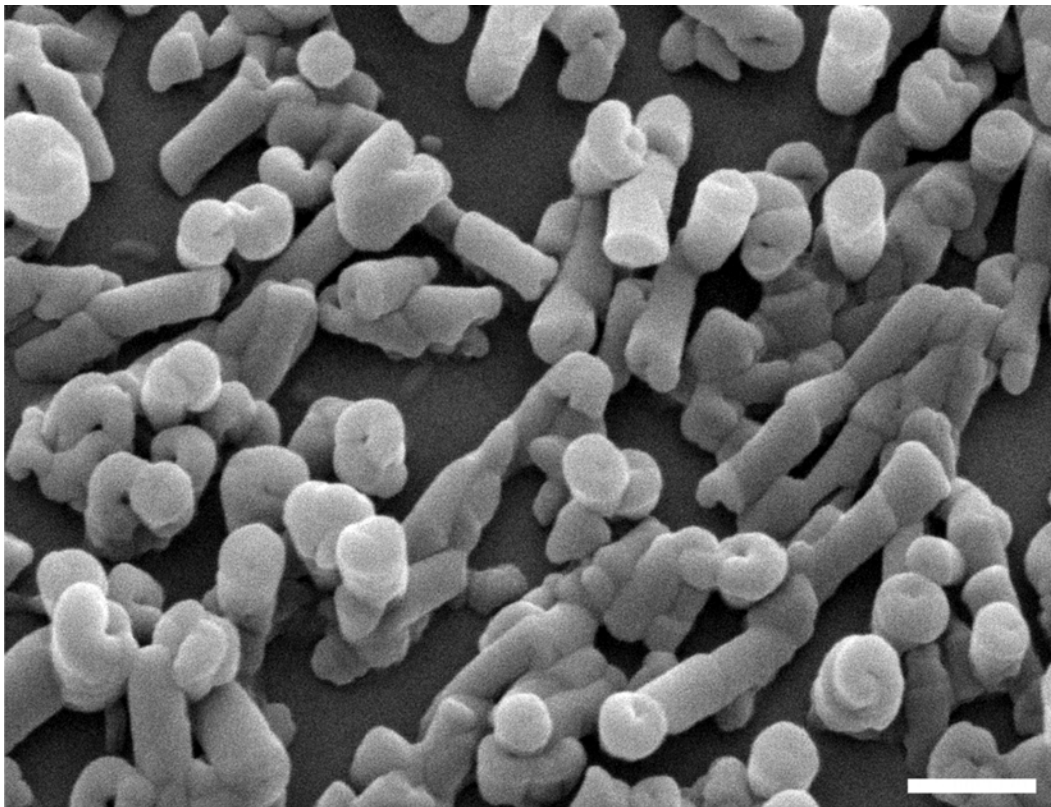


Abbildung 4.26: Rekristallisierte Nonacosanolröhrchen auf HOPG bei 50°C Lagerung nach 1 Tag ( $510 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $20,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skala:  $1 \mu\text{m}$

#### 4.3.4 Vergleich von nativen und rekristallisierten Röhrchen

Dieses Kapitel geht auf den Aufbau der Röhrchen ein. Mit Hilfe eines Feldemissionsmikroskops (Zeiss SUPRA 40VP mit Cryo-Einheit, Jena, Deutschland, Prof. Neinhuis TU Dresden) ist es möglich gewesen, hochauflösende Aufnahmen von Röhrchen zu machen. Bei niedrigen Beschleunigungsspannungen von 0,5 bis 5 kV sind Aufnahmen möglich, ohne die Röhrchen zu stark zu deformieren. Bei höheren Spannungen von ca. 15 kV<sup>4</sup> und entsprechend starker Vergrößerung (  $\times 25000$ ) schmilzt die äußere Schicht oder so-

---

<sup>4</sup>Das REM im Nees Institut, welches für die restlichen Aufnahmen genutzt wurde, arbeitet mit diesen Beschleunigungsspannungen.

gar das gesamte Röhrchen. Die Abbildung 4.27 zeigt Details des Aufbaus von nativen Röhrchen von *Tropaeolum majus* L.

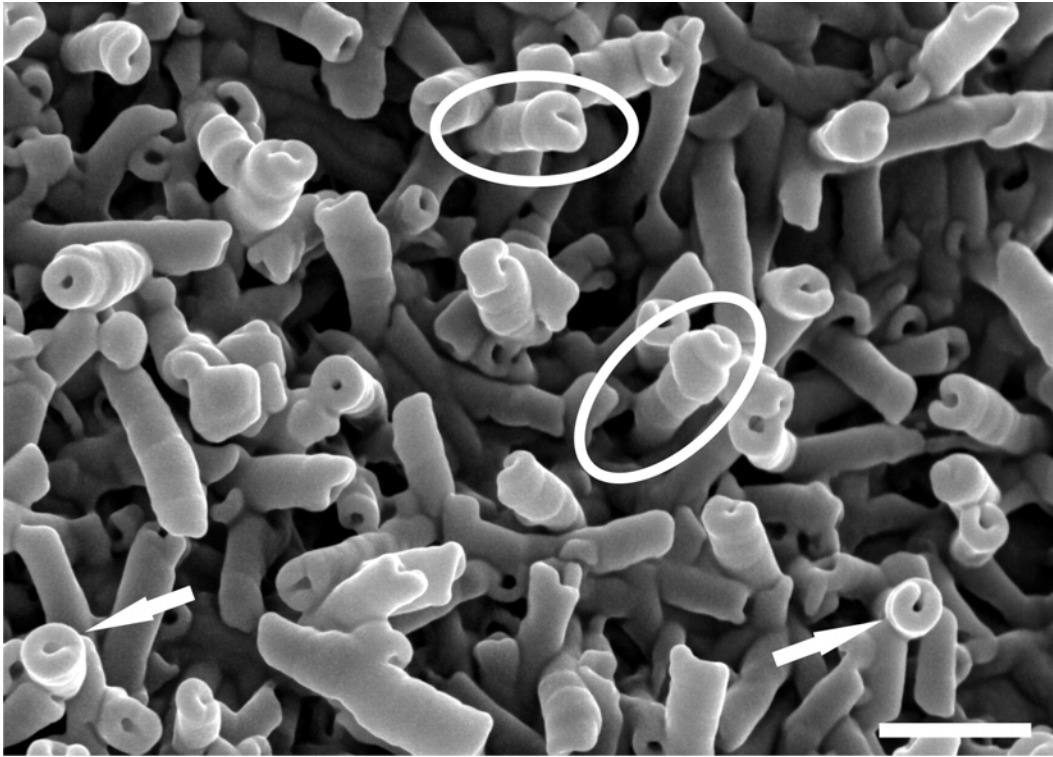


Abbildung 4.27: Native Röhrchen von *Tropaeolum majus* L., mit Platin besputtert; Skala: 400 nm

Die eingekreisten Röhrchen liefern dank der Seitenperspektive Details über deren Aufbau. Die spiralförmige Form ist hierbei deutlich zu sehen. Wie schon KOCH et al. 2006<sup>58</sup> gezeigt haben, wachsen Röhrchen spiralförmig. Die mit Pfeilen markierten Stellen zeigen die terminalen Endstücke, welche entweder eine Drehung im oder gegen den Uhrzeigersinn aufweisen. Der Durchmesser der Röhrchen beträgt zwischen 100 und 150 nm und deren Länge variiert von 400 bis ca. 800 nm.

Abbildung 4.28 zeigt Details zum Aufbau der rekristallisierten Röhrchen. Diese Wachsstrukturen sind aber anders aufgebaut als ihre nativen Gegenstücke. Statt der Bildung einer Spiralförmigkeit sehen die Röhrchen aus, als ob sie eingerollt wären (eingekreister Bereich). Ihre Endstücke (Pfeil) zeigen kein Wachstum an dieser Stelle, die

Drehrichtung lässt sich nur aus der Wulst am Rand des Röhrchens erkennen. Da KOCH et al. 2006<sup>58</sup> eindeutig gezeigt haben, dass Röhrchen durch eine Windung zur Spirale entstehen, ist dieser Wachstumsmechanismus unklar. Hier besteht die Möglichkeit, dass sich durch eine oder mehrere Komponenten, die aufgedampft wurden, in Verbindung mit der höheren Rekristallisationstemperatur ein Überzug gebildet hat, der die Spiralstruktur überdeckt. Auch das beschleunigte Wachstum durch höhere Temperaturen (50°C) bei der Rekristallisation könnte für diesen Überzug verantwortlich sein. Die Wachsstrukturen ohne Überzug sind bis zu 250 nm dick und weisen eine Länge von 500 bis ca. 1500 nm auf, was einer ähnlichen Beobachtung, wie sie KOCH et al. 2006<sup>58</sup> mit Durchmessern von 200 bis 230 nm gemacht haben, entspricht.

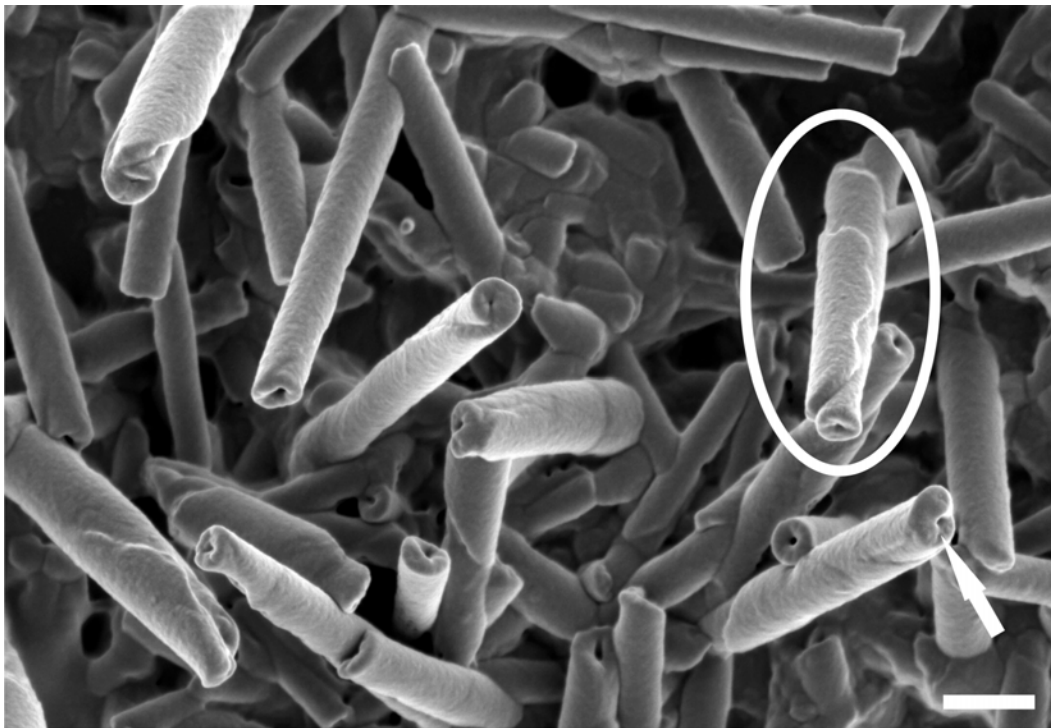


Abbildung 4.28: REM-Aufnahme der auf Glas bei 50°C ohne Lösungsmittel rekristallisierten Röhrchen von *Tropaeolum majus* L., mit Platin besputtert; Skala: 400 nm

## 4.4 Wachsgemische aus Schuppen und Röhrchen

Nach den Versuchen mit Octacosanol und Nonacosanolwachs von *Tropaeolum majus* L. stellte sich die Frage nach den möglichen Resultaten, wenn beide Wachse miteinander zeitgleich aufgedampft und zur Rekristallisation gebracht werden. Wie werden dann die Wachsstrukturen aussehen? Um diese Fragestellung zu klären, wurden beide Wachse jeweils für sich allein als Vergleichsproben und nochmals in festen Verhältnissen von Octacosanol zu Tm-Wachs (1:3, 1:1 und 3:1) aufgedampft. Dabei ist zu beachten, dass das Tm-Wachs als Gesamtfraktion und Octacosanol als Reinkomponente vermischt wurden. Daraus ergeben sich tatsächliche Massenverhältnisse von strukturbildenden Anteilen von 1:2,26 (statt 1:3), 1,39:1 (statt 1:1) und 3,99:1 (statt 3:1) von Octacosanol zu Nonacosanol und Diolen im Kapuzinerkressewachs, da die Anteile dieser Komponenten im Wachs insgesamt bei 101,58 % (reines Octacosanol und Octacosanol aus dem Tm-Wachs) zu 76,44 % (nur Nonacosanol und alle Diole aus dem Tm-Wachs) liegen.<sup>5</sup>

Abbildung 4.29 zeigt die Vergleichsproben nach 7 Tagen Rekristallisation bei 50°C mit ungemischtem Octacosanol auf Glas (a) und HOPG (b) sowie Tm-Wachs auf Glas (c) und HOPG (d). Sowohl (a) als auch (b) zeigen große (Kantenlänge von 1 bis 5  $\mu\text{m}$ ), zum Teil mit Fehlstellen versehene, rhomboedrische Schuppen, die auf Glas einen Winkel von etwa 20 bis 90° und auf HOPG von 80 bis 90° zum Substrat bilden. Dazwischen befinden sich deutlich kleinere Wachsstrukturen, die nur zum Teil als Schuppen identifiziert werden können. Abbildungen (c) und (d) zeigen Wachsröhrchen auf Glas bzw.

---

<sup>5</sup>(siehe Kapitel 3.2.2). Zur Berechnung wurden nur das Nonacosanol und die beiden identifizierten Diole, die zusammen einen Anteil von 75,35 % an den Diolen und 12,00 % an der Gesamtmasse haben, genommen. Bei Nonacosanol sind die Anteile bei 97,57 % des sekundären Alkohols Nonacosanol und damit bei 64,44 % an der Gesamtmasse, das ergibt zusammengerechnet den 76,44 % Anteil am Gesamtwachs. Zusätzlich muss bedacht werden, dass Tm-Wachs auch einen Anteil von 1,58 % an Octacosanol an der Gesamtmasse enthält (in der Summe sind es also 101,58 %). Obwohl auch Alkane Schuppen bilden können, wurden sie, aufgrund ihres geringen Anteils im Tm-Wachs, aus den Berechnungen ausgeklammert. Aus diesen Berechnungen ergibt sich das angegebene tatsächliche Massenverhältnis.

auf HOPG, die 7 Tage bei 50°C rekristallisierten. Während es keine Vorzugsausrichtung der Röhrrchen in (c) gibt, ist ein Großteil der ausgebildeten Röhrrchen in (d) durch den Substrateffekt von HOPG senkrecht zur Oberfläche aufgerichtet, nur einige wenige zeigen eine Neigung zur Seite. Dennoch sind auch hier flachliegende Röhrrchen bzw. Röhrrchenansätze zu sehen.

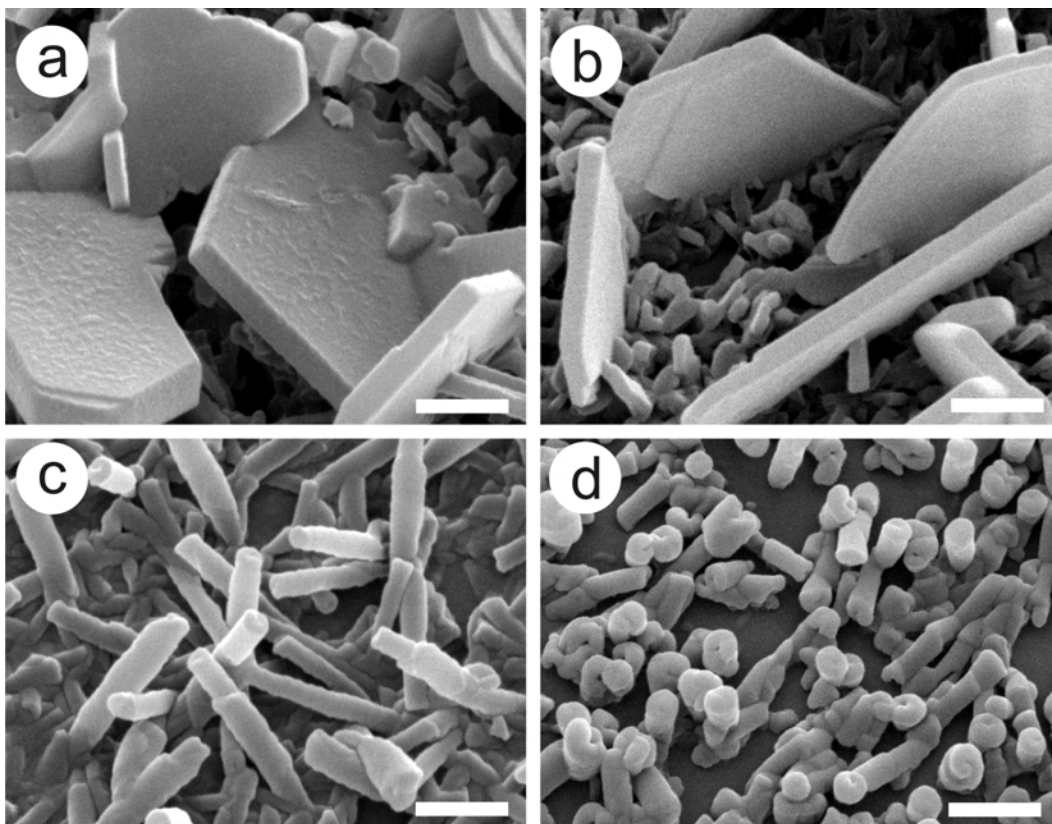


Abbildung 4.29: Octacosanolschuppen auf Glas (a) und HOPG (b) nach 15 Tagen und Nonacosanolröhrrchen auf Glas (c) und HOPG (d) nach 7 Tagen bei 50°C rekristallisiert (Octacosanol:  $1210 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $48,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , Röhrrchen:  $1040 \mu\text{g}$  bei  $2 \text{ cm}$  Abstand =  $41,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) ; Skalen:  $1 \mu\text{m}$

Die ersten Experimente mit der Mischung zweier Wachse, die zwei verschiedene Strukturen bilden, wurden im Verhältnis 1:3 von Octacosanol zu Kapuzinerkressewachs durchgeführt (was einem Verhältnis strukturbildender Komponenten von 1:2,26 entspricht). Abbildung 4.30 zeigt die bei 50°C rekristallisierten Strukturen nach 1 (a),



3 (b), 7 (c) und 15 Tagen (d). Der hier gezeigte Selbstorganisationsprozess ist dem der Röhrrchen von reinem Tm-Wachs gleich, bis auf die Tatsache, dass man nach einem Tag schuppenähnliche, dünne und bis zu 200 nm lange Strukturen zwischen den Röhrrchen findet. Diese lösen sich jedoch innerhalb von zwei Tagen auf. Der hohe Röhrrchenwachsanteil bewirkt, dass sich diese Strukturen gegenüber den Schuppen durchsetzen.

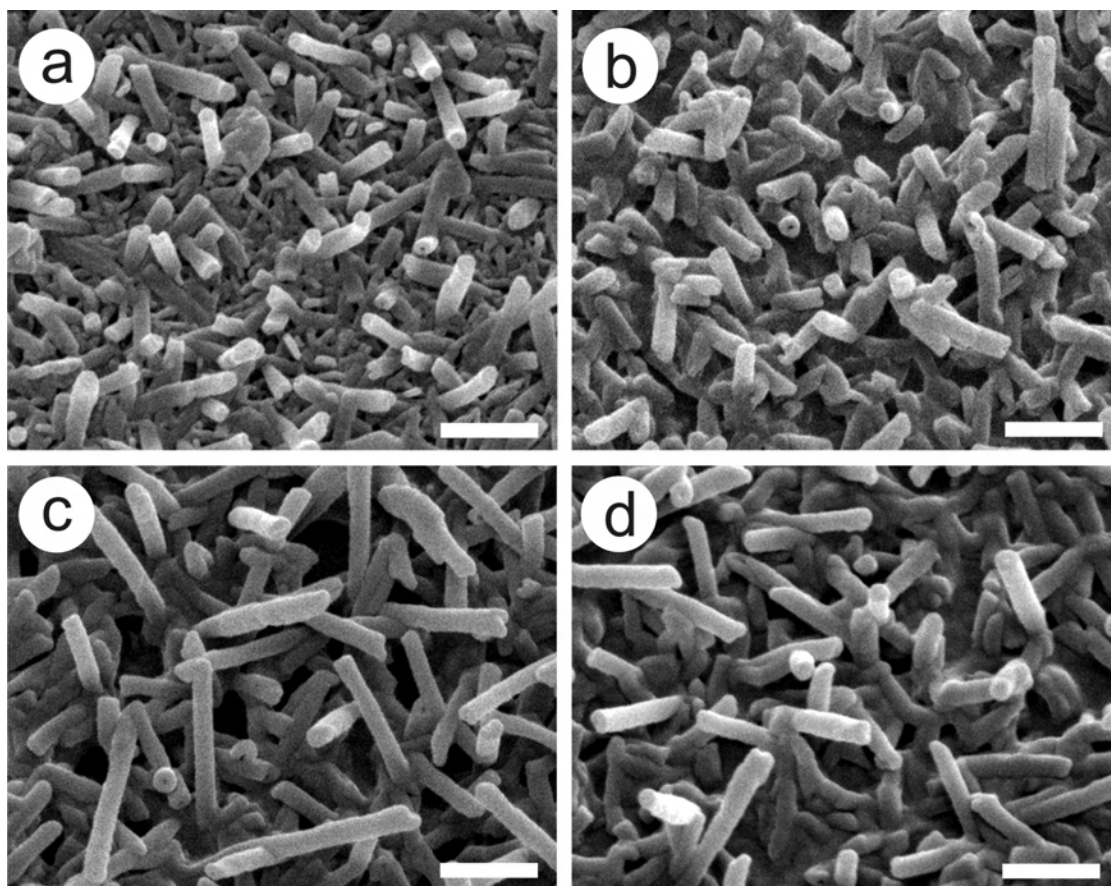


Abbildung 4.30: Rekristallisierte Wachsstrukturen durch Aufdampfung von Octacosanol und Tm-Wachs im Massenverhältnis von 1:3 (strukturbildender Anteil entspricht 1:2,26) nach 1 (a), 3 (b), 7 (c) und 15 Tagen (d), Rekristallisationstemperatur 50°C (1060  $\mu\text{g}$  bei 2 cm Abstand = 42,18  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen: 1  $\mu\text{m}$

Abbildung 4.31 zeigt REM-Aufnahmen von Wachsstrukturen, die sich bei einem Verhältnis von Octacosanol zu Tm-Wachs von 1:1 (Verhältnis strukturbildender Komponenten von 1,39:1) nach 1 (a), 3 (b), 7 (c) und 15 Tagen (d) bilden. Nach 1 Tag

sind hier nicht nur Röhrchen, sondern auch die schnell rekristallisierenden Schuppen zu sehen. Die geometrische Form und die Glattheit der Kanten ihrer Gegenstücke, die sich nur aus Octacosanol bilden (Abbildung 4.29), fehlt jedoch.

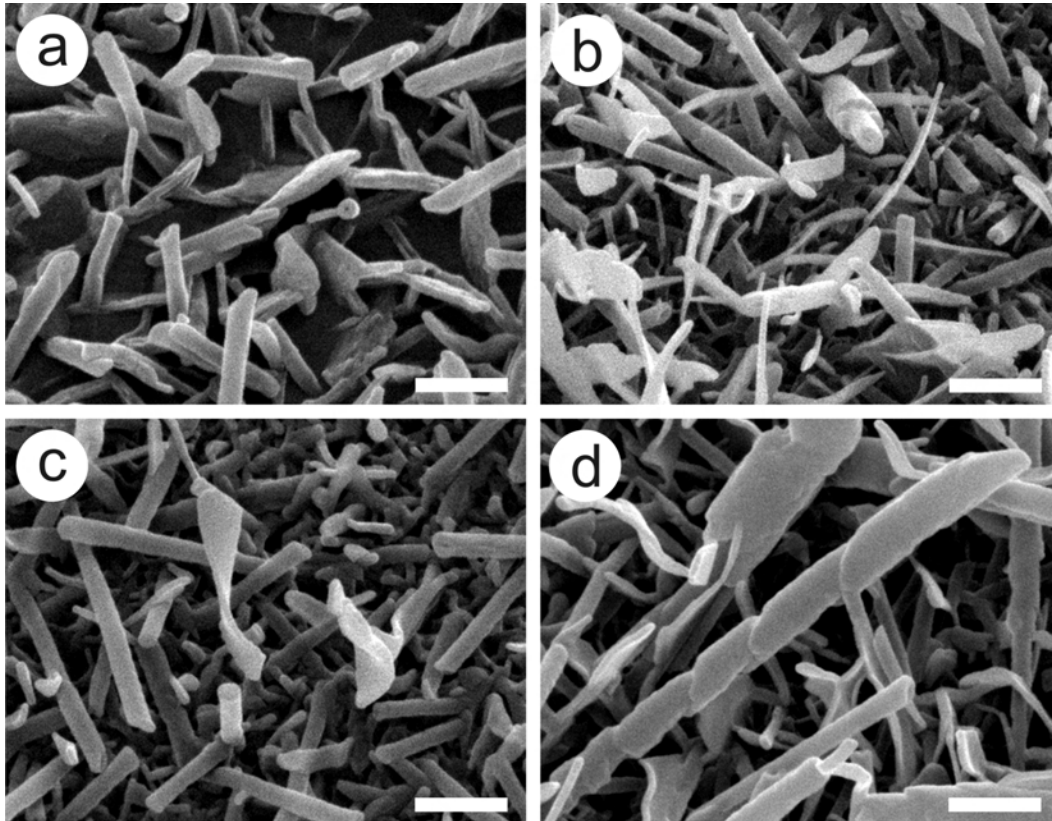


Abbildung 4.31: Rekristallisierte Wachsstrukturen durch Aufdampfung von Octacosanol und Tm-Wachs im Massenverhältnis von 1:1 (strukturbildender Anteil entspricht 1,39:1) nach 1 (a), 3 (b), 7 (c) und 15 Tagen (d), Rekristallisationstemperatur 50°C (1060  $\mu\text{g}$  bei 2 cm Abstand = 42,18  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen: 1  $\mu\text{m}$

Zwischen den Schuppen befinden sich einzelne Röhrchen. Nach 3 Tagen nehmen Anzahl und der Durchmesser der Röhrchen zu, während die Schuppenanzahl und -dicke abnimmt. Dazwischen tauchen flache, aber bis zu 3  $\mu\text{m}$  lange Stäbchen auf, welche innerhalb der nächsten Tage an Breite gewinnen. Die Röhrchen selbst werden mit der Zeit länger (3  $\mu\text{m}$  nach 7 Tagen, 6  $\mu\text{m}$  nach 15 Tagen) und auch dicker. Ihr Durchmesser liegt bei etwa 120 bis 800 nm. Die großen Röhrchen sehen zum Teil aufgerollt aus, als

ob sie, bedingt durch die große Masse und 50°C Temperatur, sich zu schnell gebildet haben. Die kleinen Röhrchen sind, bis auf ihre Länge, den Proben aus reinen Tm-Wachs identisch. Diese Versuchsreihe zeigt, dass bei bestimmten Mengen und Verhältnissen von zwei Wachsen zueinander keine komplette Trennung der Wachsstrukturen mehr erfolgt.

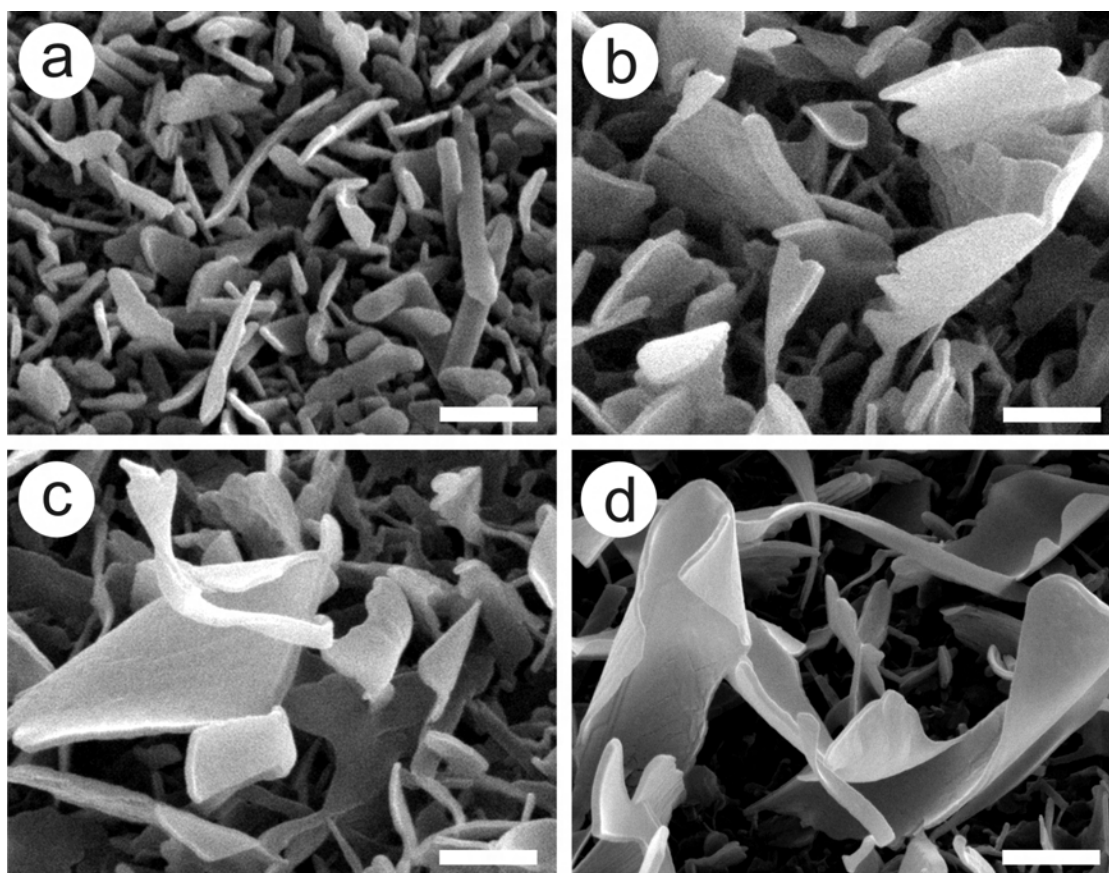


Abbildung 4.32: Rekristallisierte Wachsstrukturen durch Aufdampfung von Octacosanol und Tm-Wachs im Massenverhältnis von 3:1 (strukturbildender Anteil entspricht 3,99:1) nach 1 (a), 3 (b), 7 (c) und 15 Tagen (d), Rekristallisationstemperatur 50°C ( $1060 \mu\text{g}$  bei 2 cm Abstand =  $42,18 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen: 1  $\mu\text{m}$

Abbildung 4.32 zeigt erneut die Ergebnisse der Rekristallisation von Octacosanol und Tm-Wachs bei 50°C nach 1 (a), 3 (b), 7 (c) und 15 Tagen (d). Diesmal beträgt das Massenverhältnis 3:1 zugunsten von Octacosanol (Verhältnis strukturbildender Kom-

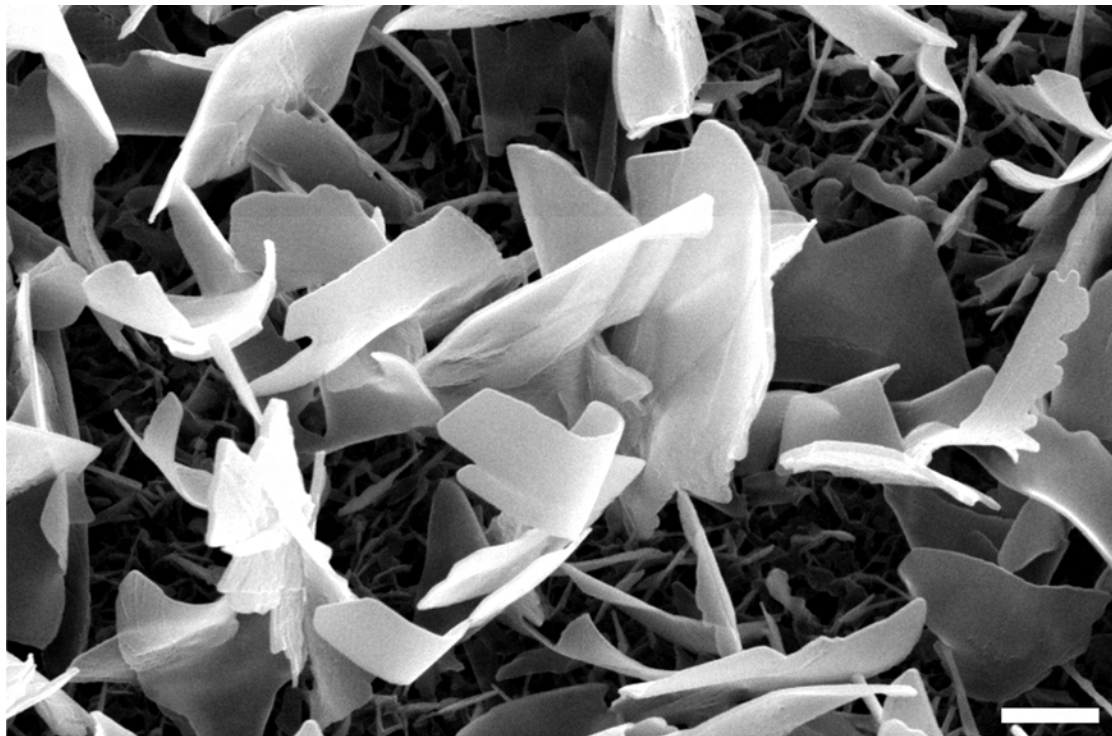


Abbildung 4.33: REM-Abbildung der rekristallisierten Wachsstrukturen durch Aufdampfung von Octacosanol und Tm-Wachs im Massenverhältnis von 3:1 (strukturbildender Anteil entspricht 3,99:1) nach 15 Tagen, Rekristallisationstemperatur 50°C (1060  $\mu\text{g}$  bei 2 cm Abstand = 42,18  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ); Skalen: 2  $\mu\text{m}$

ponenten von 3,99:1). Nach 1 Tag sind viele kleine (Kantenlänge bis zu 1  $\mu\text{m}$ ) Schuppen mit abgerundeten Kanten, aber nur wenige bis zu 2,5  $\mu\text{m}$  lange Röhrchen zu sehen. Ab dem dritten Tag sind diese Schuppen nicht mehr auf den REM-Bildern zu sehen. Stattdessen hat sich die Größe der Schuppen deutlich erhöht. Ihre wellenförmigen Kanten haben eine Länge von bis zu 3  $\mu\text{m}$ , zudem sind sie nicht immer eben und flach, sondern zeigen Verformungen und Biegungen. Diese können durch die Einwirkung des Elektronenstrahls entstanden sein, einen Nachweis für das Vorhandensein von Röhrchen- und Schuppenwachsen in den Strukturen ist nicht möglich gewesen, aber auch nicht auszuschließen<sup>6</sup>. Diese Verformungen bleiben auch am siebten Tag erhalten. Nach 15 Tagen

<sup>6</sup>In der Diskussion werden diese beiden Möglichkeiten gegenübergestellt, und mit einigen Bildern aus Videos, die im REM gemacht wurden, wird besonders auf die Wirkung des Elektronenstrahls auf

(d) sieht man die Verdrehungen der Wachsstrukturen deutlich. Ihre Größe variiert von maximal  $1\ \mu\text{m}$  Kantenlänge bei den Schuppen in der unteren Ebene der Probe auf bis zu  $4\ \mu\text{m}$  bei den darauf wachsenden Strukturen.

Die Größendimensionen der Wachsstrukturen kann man besonders gut in Abbildung 4.33 erkennen, da dieses Bild nur 5000fach, statt wie üblich 20000fach, vergrößert ist. Bei diesem Massenverhältnis fand nur am Anfang eine Trennung der Strukturen statt, nach wenigen Tagen haben beide Wachse sich in einer neuen Struktur rekombiniert.

## 4.5 Wachsfilme

Neben zwei dreidimensionalen Strukturen, den Röhrchen und Schuppen, wurden auch Untersuchungen an zweidimensionalen Wachsfilmen von *Citrus limon L.* durchgeführt. Einer Analyse des Höhenprofils des Films, welcher mittels der Cryomethode abgehoben wurde, folgten Rekristallisationsexperimente auf Glas und HOPG. Bei Versuchen der Rekristallisation mittels Wachsaufdampfung, bei der einzelne Komponenten Strukturen bildeten, wurde auf die Rekristallisation aus einer Chloroformlösung zurückgegriffen und das Wachstumsverhalten auf Glas und HOPG mittels AFM und REM festgehalten. Der Fokus wurde auf den Substrateinfluss gelegt.

### 4.5.1 Aufbau der Wachsfilme

Wachsfilme galten lange als amorph. Röntgenbeugungsexperimente im Kapitel 3.3.1 zeigten jedoch, dass es sich hierbei um eine kristalline Anordnung handelt, die in einzelnen Schichten aufgebaut sein kann (ENSIKAT et al. 2006<sup>26</sup>). Die Abtastung der Oberfläche mittels Rasterkraftmikroskopie ermöglicht den Nachweis einzelner Wachsschichten innerhalb des Films und deren Höhenvermessung. Dazu wurden drei frische, unbehandelte Blätter von *Citrus limon* genommen und der Wachsfilm der Blattunterseite mittels der Cryomethode auf Glas übertragen. Teile des Wachses wurden in

---

Wachse eingegangen.

kleinen Gruppen und nicht als geschlossene Schicht übertragen, so dass an den Kanten mittels AFM das Höhenprofil gemessen werden konnte. Abbildung 4.34 zeigt die entsprechenden AFM-Ergebnisse.

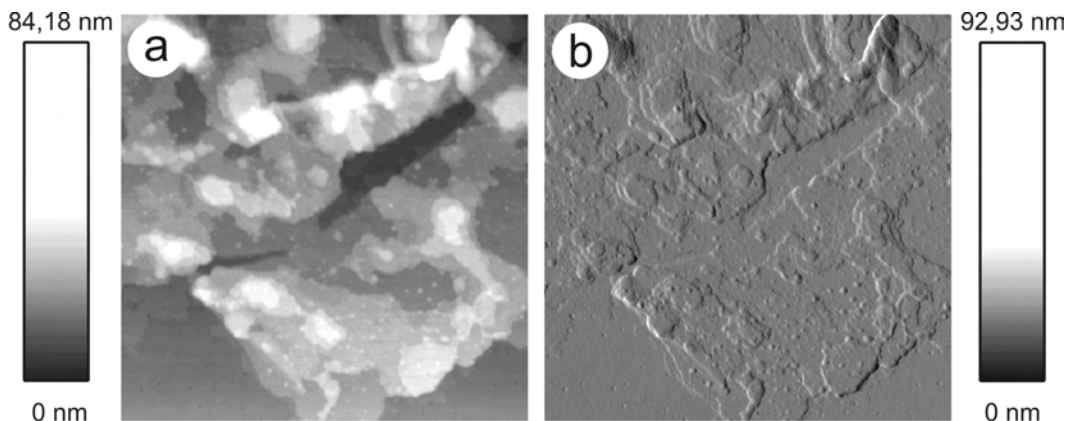


Abbildung 4.34: AFM-Höhen- (height image) und Regelsignalbild (deflection image) des Wachses der Unterseite von *Citrus limon L.* (Scanfläche: 2x2 µm)

Unter dem AFM zeigte sich, dass Wachsfilme aus mehreren Wachsschichten aufgebaut sind. Mittels der „Function Section Analysis“ der AFM-Software wurden diese einzelnen Schichten vermessen. Im Mittel beträgt die Dicke 6,876 nm (10 Messungen, Standardabweichung = 0,417). Dies entspricht zwei Moleküllängen, die etwa 24-30 Kohlenstoffe als Hauptkette (Backbone) haben und zu einer Doppelschicht angeordnet wären. Tatsächlich sind solche Kettenlängen durch die GC-MS Analyse bestätigt worden. Da aber keine Aussage über deren Ausrichtung und das Verhalten der einzelnen funktionellen Gruppen gemacht werden kann, ist der Doppelschichtaufbau nur eine Modellannahme.

#### 4.5.2 Substrateinfluss

Nach der mechanischen Abhebung des Wachses vom Blatt mittels der Cryomethode wurde, neben der Profilanalyse des Wachsfilms, ein Teil des Wachses in Chloroform mit einer Konzentration von 8,06 mg/ml gelöst. Nach der Applikation eines Tropfens der Lösung auf dem Substrat (Glas und HOPG) und seiner Verdunstung wurden die

Rekristallisationsfortschritte nach einem Tag mittels AFM und REM dokumentiert. Die Abbildung 4.35 zeigt die Ergebnisse nach einem Tag auf Glas, Abbildung 4.36 die auf HOPG im selben Zeitraum.

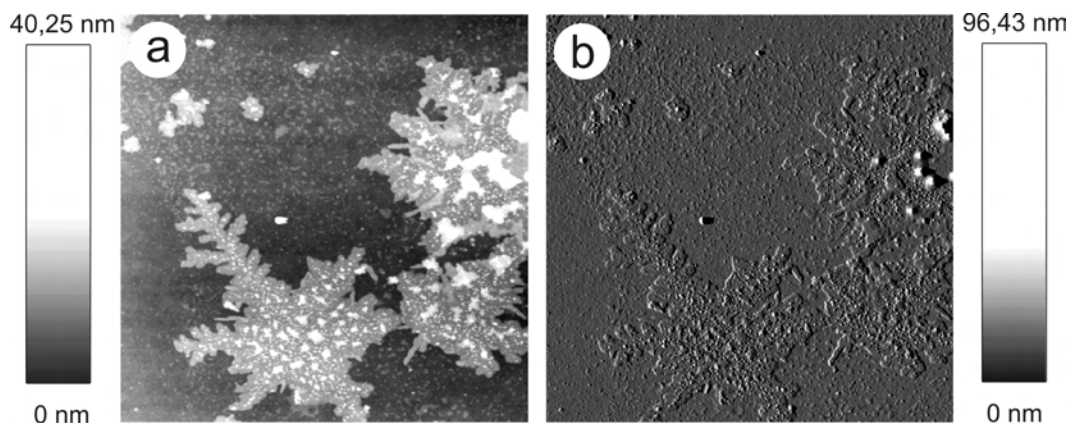


Abbildung 4.35: Höhen- und Regelsignalbild des rekristallisierten Wachses auf Glas nach einem Tag

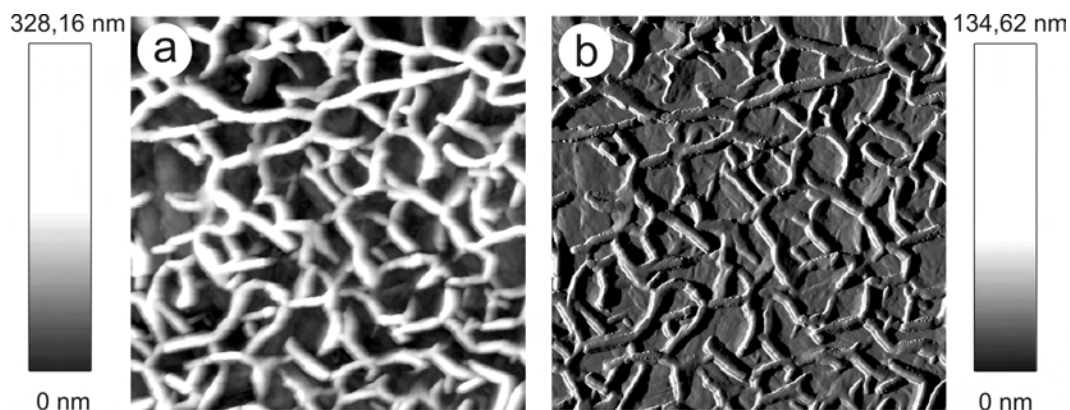


Abbildung 4.36: Höhen- und Regelsignalbild des rekristallisierten Wachses auf HOPG nach einem Tag

Beide Proben unterscheiden sich stark voneinander. Während auf Glas ein flaches und dendritisches Wachstum zu sehen ist, bilden sich auf HOPG dreidimensionale Strukturen, die ihre Lage an der hexagonalen Substratgeometrie ausrichten. Bei diesen Strukturen fand eine Phasentrennung einzelner Komponenten statt, welche dann für sich allein keinen Film mehr bilden (können).



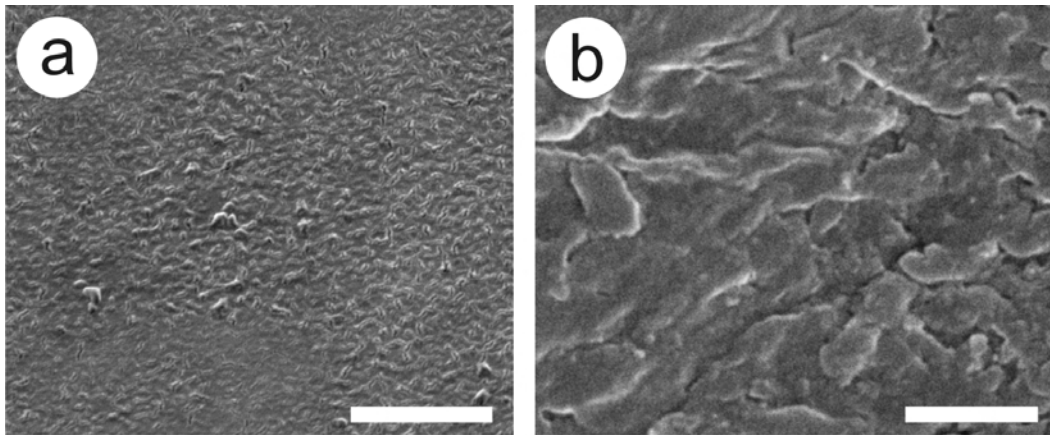


Abbildung 4.37: REM-Bilder a) des rekristallisierten Wachses auf Glas nach 10 Tagen;  
b) des nativen Wachsfilms auf der Blattunterseite; Skalen:  $2\ \mu\text{m}$

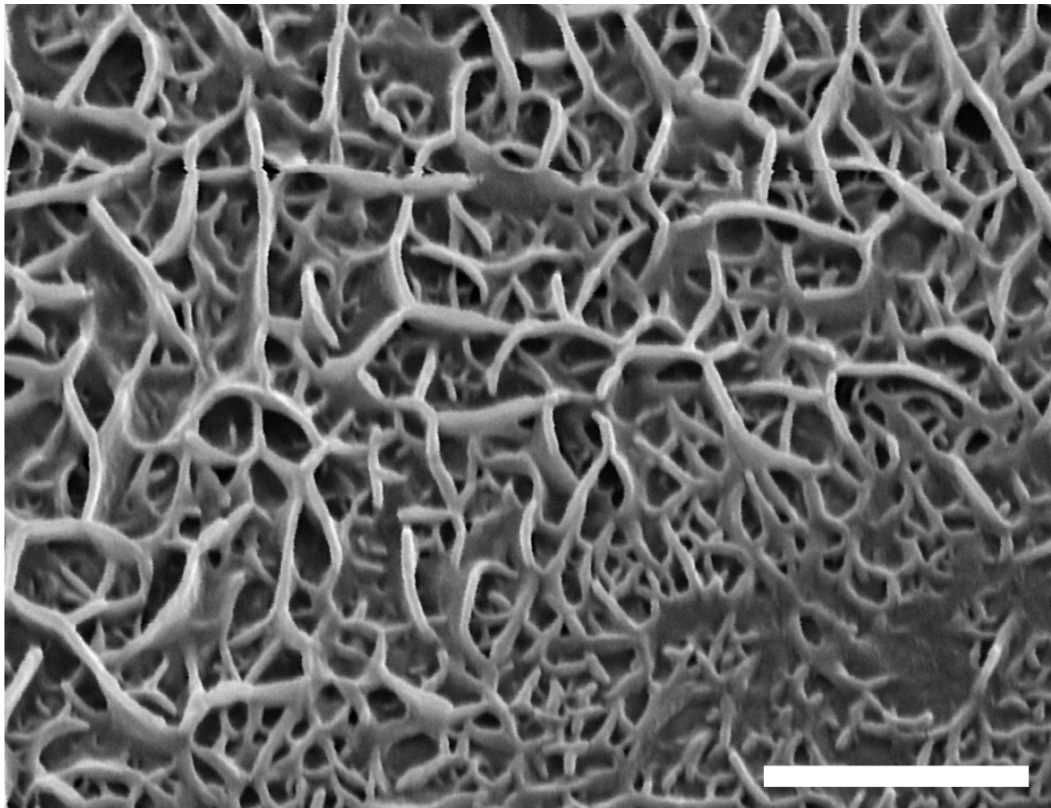


Abbildung 4.38: REM-Bild des rekristallisierten Wachses auf HOPG nach 10 Tagen;  
Skala:  $2\ \mu\text{m}$



Unter dem Rasterelektronenmikroskop lassen sich bei den Wachsen auf Glas (Abbildung 4.37) nach 10 Tagen Rekristallisation kleine Wachsstrukturen erkennen, die aber keine Ähnlichkeit mit Schuppen oder den gewünschten Filmen haben. Dies deutet darauf, dass nur eine partielle Auftrennung der Wachse stattfand und zu diesem Ergebnis führte. Die HOPG-Probe weist hingegen zwei verschiedene Strukturen auf. Wie schon unter dem AFM gesehen, bildet sich ein Netzwerk aus miteinander verflochtenen und niedrigen Wachsschuppen ohne jegliche Ordnung (Abbildung 4.38).

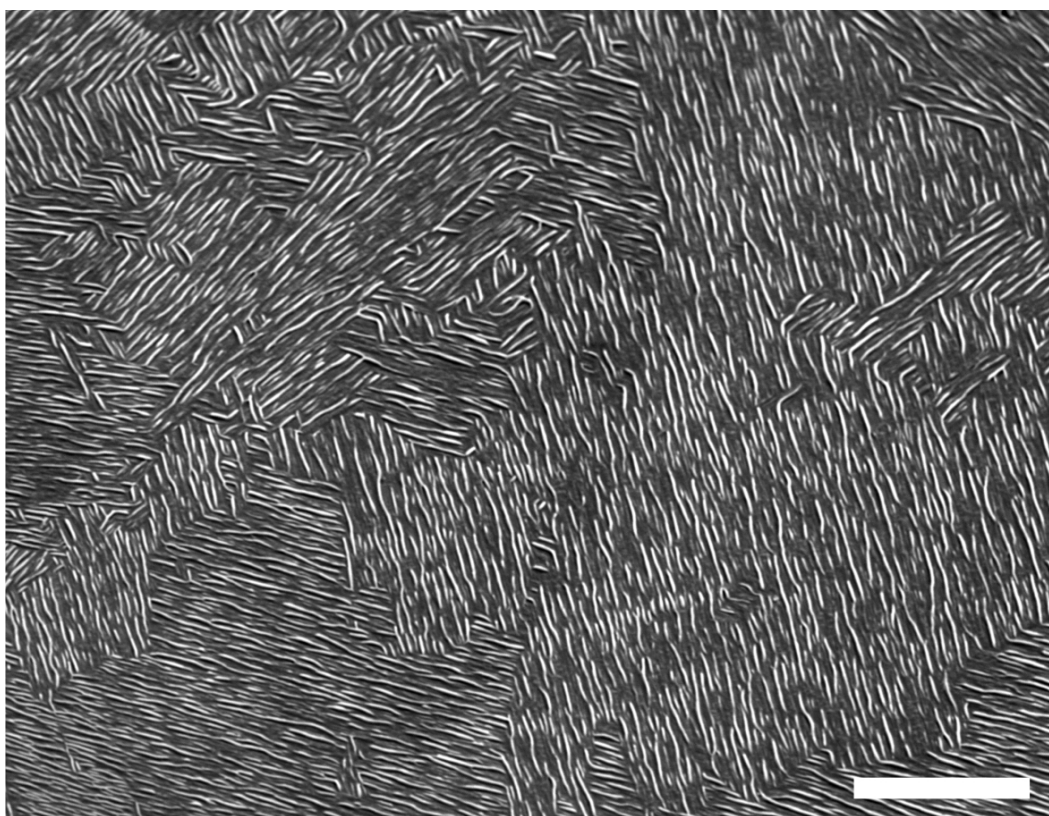


Abbildung 4.39: REM-Bild von rekristallisiertem Zitronenblattwachs (Hauptstoffklassen Alkane und prim. Alkohole) auf HOPG nach 10 Tagen, welches eine hexagonale Ausrichtung aufweist; Skala:  $2\ \mu\text{m}$

Die zweite Form dieses Schuppennetzes ist in Abbildung 4.39 zu sehen. Der Substrateffekt beeinflusst die Ausrichtung des Schuppennetzwerks und es entsteht ein hexagonales Muster mit  $120^\circ$ -Winkeln. Dieser Effekt scheint aber eine Ausnahme zu sein, die

meisten Proben wiesen kein solches Wachstumsmuster auf, obwohl sie alle zeitgleich unter denselben Bedingungen präpariert und zur Rekristallisation gebracht wurden. Die meisten Proben wiesen eine Form und Ausrichtung auf, die der in Abbildung 4.38 gleicht.

## 4.6 Diskussion 4. Kapitel

Das 4. Kapitel hat als Thema die Rekristallisation von Wachsstrukturen. Dabei sollen Parameter, wie Temperatur, Substrat und Lösungsmittel, welche den Vorgang beschleunigen oder verlangsamen können, untersucht werden. Zudem können diese Parameter Auswirkungen auf die Ausrichtung und Form der Wachsstrukturen haben. Die Rekristallisation der Wachsschuppen wird vor der der Wachsröhrchen besprochen. Beim ersten Punkt wird unterschieden, ob die Wachsschuppen aus einer Einzelkomponente wie Octacosanol oder aus dem Gesamtwachs von Porree rekristallisiert wurden, wobei die Art der Auftragung, aus Lösung oder per Aufdampfung, auch eine wichtige Rolle spielt. Als erster Diskussionspunkt wird diese Methode der homogenen Deposition von Wachs besprochen. Dabei stellt sich vor allem die Frage nach der thermischen Stabilität der Wachse.

Kapitel 4.1 beschreibt die GC-MS-Ergebnisse einer Porreewachsprobe vor und nach dem Aufdampfen. Die aus beiden Analysen sich ergebenden Daten zeigen nur geringfügige Unterschiede bei den Stoffklassen im Allgemeinen und bei den wichtigsten Molekülen im Speziellen. Der Anteil der Ketone und primären Alkohole nimmt leicht zu, der der Alkane und Ester sowie der nicht identifizierten Anteile leicht ab. Die Abnahme der Menge der beiden letztgenannten Gruppen spricht für einen höheren Schmelzpunkt und damit für eine schlechte Verdampfungsrate der bis zu 60 Kohlenstoffatome beinhaltenen Alkylester und unbekannten Komponenten. Die Abnahme dieser beiden Gruppen ist auch für die Zunahme der wichtigen Komponenten, wie Hentriacontan-16-on, Nonacosan, Hentriacosan, Hexacosanol und Octacosanol in Abbildung 4.2 zuständig. Auch die Hauptkomponente von Porreewachs, Hentriacontan-16-on, welche kommerziell er-

worben wurde (Reinheit 90 %), zeigt die gleiche Stabilität gegenüber der thermischen Deposition (Daten nicht gezeigt).

Beide Wachse, sowohl von Porree, als auch das in diesem Fall verwendete Octacosanol, wurden auf Glas aufgedampft und zur Rekristallisation gebracht. Die Wachsmasse des Porrees wurde bewusst erhöht, da nicht alle beinhaltenden Komponenten zur Strukturbildung beitragen, sondern Teil des basalen Wachsfilms sind. Der 3,5-fache Bedeckungsgrad an Porreewachs gegenüber Octacosanol liefert dennoch Schuppen gleicher Anzahl, Größe, Geometrie und Ausrichtung. Der einzige Unterschied zeigt sich zwischen den Schuppen (Abbildung 4.3) von Porree, indem dort große, aber flachliegende Schuppen sichtbar sind. Diese sind durch eine oder mehrere der restlichen Komponenten gebildet worden.

Einer der ersten Parameter der Selbstorganisation, welcher untersucht wurde, war der Einfluss der Temperatur auf die Rekristallisationsgeschwindigkeit. Die Ergebnisse im Kapitel 4.2.1 zeigen jedoch, dass sich Wachsschuppen, als ein Einkomponentensystem, als ungeeignet zur Klärung dieser Frage gezeigt haben. Zwischen den jeweiligen Bildersequenzen a) bis d) der Abbildungen 4.4 und 4.5 zeigen sich keine nennenswerten Unterschiede. Die Größe der einzelnen Schuppen auf den Bildausschnitten a) - d) schwankt zwar, ist aber im Durchschnitt sehr ähnlich. Der Selbstorganisationsprozess ist bei diesem Strukturtyp zu schnell, um ihn mittels des REM innerhalb des gewählten Zeitrahmens darstellen zu können<sup>7</sup>. Obwohl hier keine Aussage zum Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeit der Selbstorganisation gemacht werden kann, hat die Temperatur einen Einfluss auf die Größe der Schuppen (siehe Rekristallisation von Schuppen auf HOPG bei 25 und 50°C, Abbildungen 4.4 und 4.5). Die Kantenlänge der Schuppen beträgt bei 25°C bis zu 600 nm, bei den 50°C-Proben jedoch bis zu 3 µm und sie besitzen eine eindeutige hexagonale Form. Dennoch sind die Ergebnis-

---

<sup>7</sup>Der Zeitrahmen von 1 bis 7 bzw. hier sogar 10 Tagen wurde wegen der besseren Vergleichbarkeit mit der Selbstorganisation der Röhrchen gewählt. Die Schuppenbildung selbst erfolgt in weniger als einem Tag, im AFM konnten schon erste Strukturen wenige Minuten nach der Aufdampfung beobachtet werden, der Prozess verläuft noch schneller bei einer Rekristallisation aus Lösung.

se der Kontaktwinkelmessungen im Bezug auf den statischen Kontaktwinkel ähnlich, der Unterschied beträgt im Mittel nur ca.  $10^\circ$ . Die Differenz der Hysterese ist jedoch mit ca.  $47^\circ$  deutlich höher, zudem rollen die Tropfen nur von der Oberfläche der bei  $50^\circ\text{C}$  rekristallisierten Schuppen mit einem Abrollwinkel von unter  $2,5^\circ$  ab. Die Größe der Schuppen im Zusammenspiel mit ihren Abständen zueinander erzeugen eine superhydrophobe Oberfläche, auf der der applizierte Tropfen nur die obersten Kanten der Schuppen berührt und sich somit nur eine geringe Adhäsion aufbauen kann (Cassie-Baxter-Stadium; CASSIE & BAXTER 1944<sup>20</sup>). Die Haftung des Tropfens auf den  $25^\circ\text{C}$ -Proben lässt sich wiederum zum Teil durch den Wenzel-Zustand, bei dem der Tropfen auch den Raum zwischen den wenigen Schuppen benetzen kann und somit die Adhäsion verstärkt wirkt, erklären (WENZEL et al. 1936<sup>114</sup>). Die dichte Mikrostrukturierung dieses Zwischenraums in Abbildung 4.4 sorgt wiederum für einen Cassie-Baxter-Zustand, da der Tropfen nicht tiefer zwischen die Strukturen eindringen kann. Eine Bildung von Lufttaschen (air pockets, BHUSHAN et al. 2009<sup>12</sup>), kann nicht ausgeschlossen werden. Die Benetzungszustände nach CASSIE & BAXTER sowie WENZEL wurden bereits am Ende von Kapitel 1 eingeführt.

Die rekristallisierten Schuppen aus Porreewachs (Abbildung 4.3 (b)) haben trotz der gleichen Chemie keine Ähnlichkeit mit den nativen Schuppen (siehe Abbildung 3.1 (a)), sondern nur mit denen aus Octacosanol (Abbildung 4.3 (a)). Ein Grund für die unregelmäßigen Kanten, besonders auf der schmalen Oberseite der Schuppen, könnte auf das Zusammenspiel mit anderen schwach vertretenen Komponenten oder auf Konzentrationsgradienten der Wachsmasse an den Spitzen zurückzuführen sein. Viel wahrscheinlicher ist die Möglichkeit eines Einflusses von Kristallisationsdefekten, wie z.B. Stufenkanten, oder von Lösungsmitteln, in diesem Fall von Wasser, welches die Pflanze zur Verfügung hat. Da die Wachsmoleküle per Co-Transport von Wasser durch die Kutikula auf die pflanzliche Oberfläche gebracht werden, ist es durchaus möglich, dass sie dank der erhöhten Mobilität die Oberkante der Wachsschuppe erreichen und dort kristallisieren. Der Mangel an kontinuierlichem Wachsnachschub in Verbindung mit Verdunstung und Stufenkanten kann ein solches unregelmäßiges Wachstum her-

vorrufen.

Die daraus folgenden Experimente befassten sich mit diesem Einfluss von Lösungsmitteln auf die Rekristallisation. Verändern sie die Rekristallisationsgeschwindigkeit, die Form und/oder die Ausrichtung der Wachsschuppen? Zur Klärung dieser Frage(n) wurden Wasser, welches auch der Pflanze unter anderem als Transportmittel für Wachsmoleküle zur Verfügung steht, und Ethanol gewählt. Nach der Aufdampfung der Wachse lagerten die Proben in einer Wasser- bzw. Ethanoldampfatmosfera für 1, 3, 7 und 10 Tage bei 25 oder 50°C. Der Hauptunterschied dieser Experimente mit den ablaufenden Prozessen in der Natur ist der, dass hier das Lösungsmittel von außen an die Wachsmasse gebracht wurde. Die Pflanze hingegen solvatisiert einzelne Moleküle beim Transport durch die Kutikula, was eine höhere Diffusion der Moleküle zur Folge hat. Dieser Nachteil der Solvatation *nach* dem Aufdampfen auf nichtbiologischen Oberflächen zeigt sich in einer negativen Art und Weise auf die Rekristallisationsergebnisse. Die gebildeten Strukturen bei 25°C und einer Wasserdampfatmosfera setzen sich aus vielen, oft senkrecht zueinander stehenden kleinen Schuppen zusammen. Die Temperatur von 25°C reicht, im Gegensatz zu Röhrchen, für die Bildung von Schuppen aus. Wasser besitzt die Eigenschaft Wachse aufzulösen<sup>8</sup>. Dieses Bilden und Auflösen kann bei einer langsamen Kristallisationsgeschwindigkeit zur Entstehung von vielen kleinen und verbundenen, statt einigen großen und einzelstehenden, Schuppen führen (Abbildung 4.7). Eine Erhöhung der Temperatur auf 50°C beeinflusst die Rekristallisation so, dass, trotz der erhöhten Wasserdampfkonzentration, der Einfluss des Lösungsmittels abgeschwächt wird. Nach 3 Tagen sind erste große Schuppen (Abbildung 4.8 (b)), wie bei den Experimenten ohne Wasser, sichtbar und ihre Geometrie entspricht einer hexagonalen Ordnung (c). Zwischen diesen Schuppen befinden sich jedoch weiterhin

---

<sup>8</sup>Diese Eigenschaft konnte bei Versuchsreihen mit untergetauchten Wachsstrukturen über mehrere Wochen von Prof. Dr. Kerstin Koch und Matthias Mayser (Nees Institut für Biodiversität der Pflanzen, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn) beobachtet werden. Hier dauerte der Versuch nur 10 Tage und nur in den ersten Tagen bestand eine Wasserdampfatmosfera, dennoch kann diese Eigenschaft erheblichen Einfluss auf die Nukleation und die ersten Schuppenansätze haben.

viele kleine Strukturen, welche durch den kurzen Einfluss des Wassers entstanden sein können und nach der Verdunstung des Lösungsmittels erhalten blieben.

Interessanterweise spielt in diesem Fall die Größe und Form der Strukturen für die Benetzung durch einen applizierten Tropfen keine Rolle. Diese liegen mit statischen Kontaktwinkeln von über  $160^\circ$  im Bereich der Superhydrophobie. Die  $50^\circ\text{C}$ -Proben zeigen lediglich geringfügig niedrigere Abrollwinkel und Hysteresen. Dabei spielt die Strukturdichte eine wichtige Rolle für die Benetzung, bei zuviel „Freiraum“ kann der Tropfen zwischen die Strukturen einsickern (Wenzel-Zustand, WENZEL et al. 1936<sup>114</sup>) und somit seine Adhäsion verstärken. Eine zu dichte Strukturierung verhindert dies, erhöht aber, trotz eines Cassie-Baxter-Zustands (Tropfen liegt nur auf den Spitzen der Strukturen, CASSIE & BAXTER 1944<sup>20</sup>), die Auflagefläche und damit ebenfalls die Kontaktfläche und führt zu geringeren Kontaktwinkeln (BHUSHAN et al. 2008<sup>13</sup> und 2009<sup>12</sup>, SPORI et al. 2008<sup>106</sup>).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Wasser bei höheren Temperaturen nur eine untergeordnete Rolle als Lösungsmittel einnimmt. Die Schuppenform und -größe gleichen denen der Rekristallisation ohne Lösungsmittel. Bei  $25^\circ\text{C}$  hat Wasser einen Einfluss auf die Form, Größe und auch Anzahl der Wachstrukturen. Dennoch ergeben die beiden verschiedenen Versuchsbedingungen gleiche Benetzungseigenschaften der Wachsschuppen.

Ethanol hat, sowohl dank des höheren Dampfdrucks und damit der höheren Konzentration in der Atmosphäre als auch als besseres Lösungsmittel für Wachse, einen größeren Einfluss auf die Rekristallisation von Wachsschuppen als Wasser (Abbildung 4.9). Die ersten Tage der Rekristallisation gleichen denen mit Wasser als Lösungsmittel. Ab dem dritten Tag nehmen die Strukturen Schuppenform an, welche dann auch, trotz einer Variation in Größe und Form, bis Versuchsende erhalten bleibt. Der klare Unterschied der Wirkung beider Lösungsmittel ist die Trennung bzw. gar Auflösung der verwachsenen Schuppen nach einem Tag. Bei einer Temperatur von  $50^\circ\text{C}$  und einer Ethanoldampf-atmosphäre verändern sich Ausrichtung, Form und Größe der Schuppen erheblich. Während ein Teil der Schuppen eine rundliche Form ausbildet, kristallisiert

der Großteil flach auf dem Substrat. Die Schuppendicke ist besonders in Abbildungen 4.10 (b) und (d) stark gegenüber der Trockenrekristallisation erhöht. Hier kann das Lösungsmittel im Zusammenspiel mit der Temperatur die Selbstorganisation so stark beschleunigen, dass im Zeitraum von einem Tag das Wachstum abgeschlossen ist. Für das flach ausgerichtete Wachstum kann, bei einem Vergleich der 50°C-Proben ohne Lösungsmittel, nur Ethanol verantwortlich sein. Eine ähnliche Beobachtung kann man bei Kondensation von Ethanol auf der Oberfläche von rekristallisierenden Röhrchen, welche noch später diskutiert werden, machen. Die REM-Untersuchungen zeigten deutlich erkennbare Stufenkanten der flachliegenden Wachsschichten.

Der Effekt von Ethanol auf die Rekristallisation von Wachsschuppen wurde auch bei einer anderen chemischen Schuppenzusammensetzung untersucht. Hentriacontan-16-on besitzt sehr ähnliche Tendenzen zur Bildung von Schuppen. Abbildungen 4.11 (a) und (b) zeigen Proben, die einen Tag einer Ethanoldampf-atmosphäre bei 25 bzw. 50°C ausgesetzt waren. Im Bezug auf die Form der Schuppen unterscheiden sich die Keton- von den Alkoholschuppen. Auf Ketonen basierende Schuppen sind runder und weisen nicht die typische hexagonale Struktur auf. Der vom Ethanol hervorgerufene Effekt ist aber der gleiche, die 25°C-Probe zeigt einzeln stehende Schuppen, während die 50°C-Probe flachliegende Schichten mit einzelnen, stark rundlichen Schuppen zeigt. Die Wiederholung dieses Experiments mit einer Chloroformdampf-atmosphäre führt zu deutlich anderen Ergebnissen. Die 25°C-Probe zeigt große Übereinstimmung mit der 50°C-Ethanol-Probe (Hentriacontan-16-on). Auch hier sind runde Schuppen auf mehreren flachliegenden Wachsschichten rekristallisiert. Die 50°C-Probe verhält sich jedoch in Gegenwart von Chloroformdampf anders. Hier bilden sich ausnahmslos flache Schichten, welche an wenigen Stellen zeigen, dass es sich um eine Mehrlagenanordnung handelt (Abbildung 4.11 (d) und Ausschnitt). Dass eine Wachskomponente unter bestimmten Bedingungen auch andere Strukturen bilden kann zeigten schon 1994 JETTER & RIEDERER<sup>47</sup>, als sie Schuppenbildung beim sonst röhrchenbildenden Nonacosan-10-ol beobachteten.

Der Einfluss des Lösungsmittels wird größer, je unpolarer es ist und je stärker die Fähigkeit zur Wachsauflösung ist. Wasser verhält sich in diesem Punkt als weniger reaktiv als Ethanol. Chloroform hingegen besitzt die Eigenschaft, innerhalb von Sekunden Wachse aufzulösen und hat die stärkste Wirkung auf die Rekristallisation. Dies mag der Grund für die abgerundeten Schuppen und Schichten in Abbildung 4.11 sein. Eine erhöhte Temperatur von 50°C des Chloroforms kann einen Einfluss auf den Nukleationsprozess der Schuppen und somit auf das Strukturenwachstum durch Solvationseffekte und Einlagerung von Chloroformmolekülen zwischen die Ketonmoleküle haben. Aus der Oberfläche ragende Strukturen können durch ihr schlechtes Verhältnis von Volumen zu Oberfläche stärker mit dem Lösungsmittel reagieren, was ihre Auflösungswahrscheinlichkeit erhöht und sich somit das Gleichgewicht zugunsten der stabileren Schichtanordnung verschiebt.

Einen Grund für die Ähnlichkeit der Schuppen aus Octacosanol und Hentriacontanol können die Moleküle selbst liefern. Beide besitzen polare und unpolare Teile, Octacosanol hat die Hydroxygruppe am Kettenende, das Keton seine funktionelle Gruppe im Zentrum. Durch eine mögliche Biegung an diesem Zentrum und dem Ausrichten der Kohlenstoffketten bei einem anisotropen Wachstum in die bevorzugte parallele Lage entsteht ebenfalls eine Anordnung mit einer polaren „Endgruppe“ (DORSET et al. 1999<sup>25</sup>, ENSIKAT et al. 2006<sup>26</sup>). Trotz des erhöhten Platzbedarfs der parallel liegenden Ketten kann folglich das Ketonmolekül, ähnlich dem primären Alkohol, Schuppen bilden.

Die Ausrichtung der Schuppen und deren Form wurden ebenfalls analysiert und die Ergebnisse im Kapitel 4.2.3 vorgestellt. Die Experimente zeigen deutlich, dass die Menge der aufgedampften Wachse, nach dem Substrat selbst, eine wichtige Rolle spielt. Auf oxidiertem Silizium ist zu erwarten, dass sich flachliegende Plättchen bilden, stattdessen rekristallisieren senkrecht stehende Schuppen (Abbildung 4.12). Eine Reduktion der Wachsmenge und Messungen mittels AFM zeigten, dass die Schuppen auf dünnen Schichten aufgewachsen waren (Abbildung 4.13, siehe auch KOCH et al. 2006a<sup>56</sup>). Diese „Unterlagen“ schwächen den Substrateffekt mit zunehmender Dicke ab. Eine REM-



Aufnahme von aus Lösung aufgebrachtem Octacosanol (Octacosanol in Chloroform, Konzentration: 15 *mg/ml*) zeigt nicht nur das planare Wachstum der Kristalle, sondern auch deren hexagonale Kristallsymmetrie (Abbildung 4.40, siehe auch hexagonale Symmetrie von Hentriacontan-16-on ENSIKAT et al. 2006<sup>26</sup>).

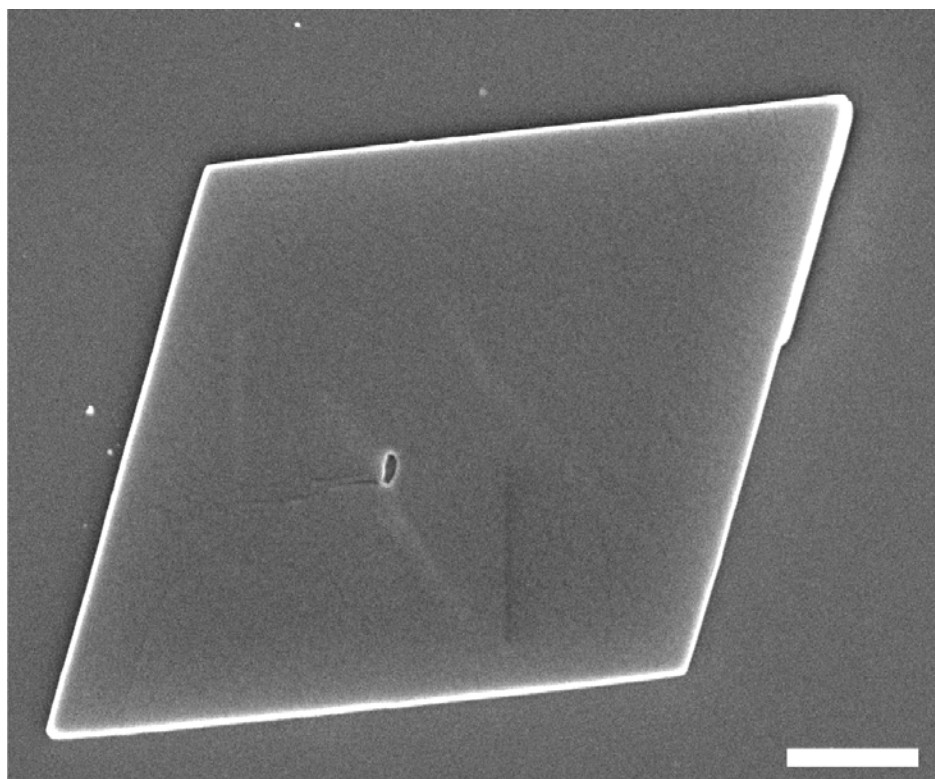


Abbildung 4.40: REM-Aufnahme von aus Lösung rekrystallisierten Octacosanolkristallen auf oxidiertem Silizium nach 7 Tagen, Skala: 3  $\mu m$

Auf unpolaren, kristallinen Substraten wie HOPG ist kein Inselwachstum beobachtbar (Abbildung 4.14). Es bilden sich direkt auf dem Substrat Bereiche mit parallel angeordneten, senkrecht wachsenden Schuppen, welche einen Winkel von  $120^\circ$  zueinander haben. Diese Anordnung richtet sich nach der vorhandenen Substratsymmetrie aus, während sich bei Silizium erst auf flachliegenden Wachsmolekülen stehende Kristalle ausbilden konnten (besonders gut sichtbar bei Hentriacontan-16-on; Abbildung 4.15, siehe auch HOMMES 2010<sup>42</sup>).

Abschließend lässt sich sagen, dass sich Schuppen als ein Einkomponentensystem hervorragend zur Erzeugung superhydrophober Oberflächen eignen (BHUSHAN et al. 2008<sup>13</sup>). Ihre hohe Rekristallisationsgeschwindigkeit auch bei Raumtemperatur ist hierbei von großem Vorteil. Auch mögliche Variationen in der Chemie, z.B. Schuppen, welche auf Keton- oder Alkoholmolekülen basieren, führen zu einem ähnlichen Kristallisationsergebnis. Die Nutzung der Wachsapplikation per Aufdampfung ermöglicht exakte Bedeckungsgrade mit homogener Verteilung der Wachse und somit eine Vermeidung von Fehlstellen, die keine wasserabweisenden Eigenschaften besitzen.

Die Rekristallisationsgeschwindigkeit der Schuppen nach der Aufdampfung ist bei Wachsröhrchen, welche als nächstes untersucht worden sind, nicht mehr so hoch. Die chemischen Analysen weisen mehr Stoffklassen auf, aber Versuche, bei denen die Komponenten der Wachse in unterschiedlichen Mischverhältnissen und deren Einfluss auf die Röhrchenbildung untersucht wurden, zeigten hauptsächlich zwei Stoffklassen auf, sekundäre Alkohole (vor allem Nonacosan-10-ol, siehe GC-MS-Analysen in Kapitel 3.2.2) und Diole (hier dominiert das Nonacosan-4,10-diol), welche für die Röhrchenbildung verantwortlich sind. Diese Mehrkomponentensysteme brauchen zur Selbstorganisation zum Kristall mehr Zeit. Dieser auf den ersten Blick scheinbare Geschwindigkeitsnachteil lässt es zu, dass REM-Bildersequenzen der einzelnen Fortschritte nach 1, 3 und 7 Tagen die Rekristallisation dokumentieren können. Je nach Experiment wurden auch kürzere (1, 6, 15 Stunden) oder längere Zeitintervalle (10 Tage) festgehalten. Zu entsprechenden Zeiten wurden passende Benetzungsexperimente durchgeführt.

Die ersten Experimente befassen sich, wie bei den Schuppen, mit dem Einfluss der Temperatur auf die Rekristallisationsgeschwindigkeit. Das Zeitintervall ist von 0 Stunden (gleich nach der Wachsapplikation durch Aufdampfung) bis 7 Tage gewählt worden. Dabei stellt sich heraus, dass die Temperatur nicht nur einen entscheidenden Einfluss auf die Geschwindigkeit hat, sondern dass sie eine Rekristallisation überhaupt erst möglich macht. Das verwendete Wachs von *Tropaeolum majus* weist bei 25°C Lagertemperatur selbst nach 7 Tagen keine Röhrchen auf (Abbildung 4.17). Die bei 50°C rekristallisierten Wachse zeigen schon nach 6 Stunden erste Röhrchenansätze und nach

15 Stunden erste ausgebildete Röhrchen (Abbildung 4.18 (b) und (c)). Eine Rekristallisation von Wachsröhrchen ist zwar auch bei niedrigen Temperaturen möglich, jedoch zeigen die hier durchgeführten Experimente, dass hierfür mindestens ca. 40°C oder die Hilfe von Lösungsmitteln benötigt werden (KOCH et al. 2006<sup>58</sup>). Mit der Bildung der ersten Wachsröhrchen ändert sich auch die Benetzung drastisch (Tabelle 4.4, oder Diagramm 4.19). Während sich der statische Kontaktwinkel schon nach 1 und 6 Stunden ändert, kommt dieser Wert nach 15 Stunden in den Bereich der Superhydrophobie ( $\geq 150^\circ$ ; EXTRAND et al. 2002<sup>28</sup>, BHUSHAN et al. 2007<sup>11</sup>, ROACH et al. 2008<sup>98</sup>, YUNG et al. 2008<sup>119</sup> und ZHANG et al. 2008<sup>122</sup>). Die Hysterese und der Abrollwinkel fallen ab diesem Zeitpunkt, d.h. der Tropfen rollt bei einem niedrigen Kippwinkel ab. Die Ergebnisse der Abrollexperimente zeigen ebenfalls, dass die bei 25°C rekristallisierten granulären Strukturen eine starke Adhäsion des Tropfens im WENZEL-Zustand aufweisen. Eine Kippung um 90° oder gar ein Kopf-über-Halten der Probe führt zu keinem Haftverlust trotz Tropfendeformation durch Schwerkraft. Die gebildeten Strukturen haben im Vergleich zu Schuppen und Wachsröhrchen eine geringere Größe und Höhe (Vergleich Abbildung 4.17 mit Abbildung 4.18), was applizierten Tropfen eine starke Wechselwirkung mit der Oberfläche ermöglicht.

Die beiden Temperaturen von 25 und 50°C zeigen jeweils eine Möglichkeit der Rekristallisation auf. Bei 25°C findet keine Röhrchenbildung und kein Abrollen des Tropfens statt, bei 50°C rollt der Tropfen durch schlechtere Benetzbarkeit der Oberfläche ab. Die Fragen, die daraus resultieren, beziehen sich auf einen möglichen Temperaturpunkt, bei der die Rekristallisation einsetzt, oder ist es doch ein linearer Prozess (Temperaturspanne), welcher mit einem kontinuierlichen Temperaturanstieg zu entsprechend besseren Rekristallisationsergebnissen und damit zu schlechteren Benetzungseigenschaften führt?

Zur Klärung dieser Frage wurden zwei miteinander verknüpfte Experimente durchgeführt. Zum einen wurde eine visuelle Bestätigung der Röhrchenbildung bei unterschiedlichen Temperaturen mittels REM, zum anderen eine Auszählung der in diesen Bildern sichtbaren Röhrchen zur Ermittlung der Aktivierungsenergie für Diffusion un-

tersucht. Auch hier wurden in mehreren Durchgängen Proben mit der nahezu gleichen Menge ( $1010 \pm 20 \mu\text{g}$ ) an Röhrenwachs von *Tropaeolum majus* bedampft und bei verschiedenen Temperaturen für 1, 3 und 7 Tage gelagert. Der Temperaturbereich lag bei 25 bis 50°C und wurde in 5°C-Abstände unterteilt.

Die ersten eindeutig vollständigen Röhren bilden sich ab 40°C (Abbildung 4.21), und die bei 45°C gebildeten Röhren gleichen denen bei 50°C. Einen Grenzbereich, oder auch Übergangsbereich stellt die Temperatur von 35°C dar. Während die Abbildungen 4.20 (b) und (f) keine Röhren zeigen, sind auf Abbildung (d) Ansätze zu erkennen. Diese Diskrepanz deutet zum einen auf einen Temperaturbereich hin, der es nur einigen wenigen Strukturen ermöglicht, sich zu Röhren zu entwickeln. Zum anderen zeigt es aber auch, dass nur eine der drei Proben diesen Fortschritt aufweist. Die 7-Tage-Probe zeigt eine geringere Entwicklung als die 3-Tage-Probe (jede Abbildung zeigt eine andere Probe). Aus diesem Grund wurden nur die Röhren der Abbildungen von 40 bis 50°C nach 1, 3 und 7 Tagen gezählt und ausgewertet. Die Auszählergebnisse sind in Tabelle 4.5 zu sehen. Dabei zeigt sich, dass nicht nur eine visuelle Übereinstimmung zwischen den 45 und den 50°C-Proben herrscht, sondern auch die Anzahl der Röhren, besonders nach 1 und 7 Tagen, nahezu identisch ist. Die Auftragung des natürlichen Logarithmus dieser Werte (nach 1, 3 und 7 Tagen) gegen den Kehrwert der Temperatur in Kelvin ergibt drei Kurven, welche sich sehr gleichen (Abbildung 4.22 und Tabelle 4.6). Die Vielzahl an Auswertungen ergibt Aktivierungsenergien, welche aus der Steigung der Geraden ermittelbar sind, zwischen 404,85 und 443,27 kJ/mol. Der Mittelwert von  $426,098 \pm 16,386 \text{ kJ/mol}$  und die Regressionsgeraden zwischen  $R^2 = 0,84$  und 0,97 zeigen die gute Übereinstimmung aller Auswertungen und die geringe Streuung der Werte. Die Auswertung lässt die 50°C-Werte aus, da sich dort kaum oder keine Änderungen zum Wert von 45°C ergeben haben.

Die Werte für eine Aktivierungsenergie der Moleküldiffusion sind sehr hoch. Zum Vergleich brauchen absorbierte PVBA-Moleküle (4-Trans-2-(pyrid-4-yl-vinyl)-benzoesäure) auf einer Pd(110)Oberfläche bei einem Bedeckungsgrad  $\theta = 0,018 \text{ ML}$  und 52°C  $0,83 \pm 0,03 \text{ eV}$  für die Diffusion entlang der [110] Richtung (WECKESSER et al.

1999<sup>112</sup>). Dies entspricht ca.  $80 \text{ kJ/mol}$  bei einem Molekulargewicht von  $225 \text{ g/mol}$  und einem Diffusionskoeffizienten von  $7,55 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ . Im Vergleich dazu hat Nonacosan-10-ol eine Masse von  $424 \text{ g/mol}$ . Jedoch ist weiterhin zu beachten, dass nach dem Aufdampfen des Wachses auf die Proben, dieses sich in einem Zustand hoher Entropie befindet. Die große Zahl an anderen vorhandenen Molekülen, die nicht an der Röhrchenbildung beteiligt sind (andere Kettenlänge oder funktionelle Gruppe(n)), die hohe Molekülmasse und nicht zuletzt die Dicke der Schicht der nicht röhrchenbildenden Wachskomponenten, durch die die Moleküle an die Oberfläche diffundieren müssen, erschweren eine Entmischung und können somit die hohen Diffusionsenergien rechtfertigen. Auch die strukturelle Ähnlichkeit der einzelnen Moleküle, z.B. primäre Carbonsäuren und Alkohole, ihrer polaren und unpolaren Ketten- teile, kann eine Neuordnung energetisch aufwendiger machen, da zuerst vorhandene Van-der-Waals-Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen aufgehoben bzw. aufgebrochen werden müssen. Der Faktor Volumendiffusion ist mit hoher Wahrscheinlichkeit der ausschlaggebende. Experimente mit verschiedenen Elementen wie z.B. Graphit zeigten, dass  $^{14}\text{C}$ -Atome bei  $2185$  bis  $2350^\circ\text{C}$  eine Diffusionsenergie von  $683 \text{ kJ/mol}$  aufweisen und lange lineare Kohlenwasserstoffe wie  $\text{C}_{10}$  und  $\text{C}_{32}$  ähnliche Diffusionskoeffizienten wie PVBA-Moleküle besitzen ( $\text{C}_{10}$ :  $D_{25} = 1,31 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ ,  $\text{C}_{32}$ :  $D_{100} = 0,30 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$  LANDOLT-BÖRNSTEIN 1969<sup>68</sup>, PVBA-Moleküle:  $D_{52} = 7,55 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$  WECKESSER et al. 1999<sup>112</sup>).

Die Senkung der Aktivierungsenergie wurde schon in vorherigen Experimenten durch den Einsatz von Lösungsmitteldämpfen während der Rekristallisationsphase erreicht. Dabei wurden Wasser und Ethanol verwendet. Diese Lösungsmittel konnten in den abgedeckten Petrischalen bei  $25$  bzw.  $50^\circ\text{C}$  verdunsten und als Dampf in die Rekristallisation eingreifen. Die Ergebnisse zeigen, dass Wasser, welches Pflanzen als einziges Lösungsmittel im Sinne von Solvatationsmittel und somit als Transportmedium zur Verfügung steht, keinen bzw. kaum Einfluss auf die hier durchgeführten Rekristallisationen hat. Die bei  $25^\circ\text{C}$  bzw.  $50^\circ\text{C}$  gebildeten Wachsstrukturen gleichen denen, die ohne Lösungsmittelverwendung entstanden sind (Abbildung 4.23). Dabei ist jedoch

zu beachten, dass die Pflanze die Möglichkeit des Co-Transports mit Wasser durch die Kutikula hat. Auf diese Weise werden die Moleküle in einem solvatisierten Zustand an die Oberfläche gebracht.

Experimente mit auf Filterpapier getrocknetem Octacosanol und dessen Diffusion durch einen Polymerfilm per Wasserdampf zeigten einen stärkeren Einfluss des Wassers auf die Rekristallisation als bei dem hier verwendeten Versuchsaufbau, wo das Wasser auf die schon gebildete Wachsschicht nur geringen Einfluss hatte (NEINHUIS et al. 2001<sup>79</sup>), siehe auch KOCH et al. (2001<sup>54</sup> und HOMMES 2010<sup>42</sup>). Bei den in dieser Arbeit durchgeführten Experimenten hat das Wasser, welches bei 25°C noch einen niedrigen Dampfdruck hat, kaum Einfluss auf die Rekristallisation. Dies liegt an der mangelnden Solvatisierungsmöglichkeit der langen Wachsmoleküle zur Unterstützung und Förderung ihrer Mobilität. Bei 50°C und einem vierfach höheren Dampfdruck steigert die Präsenz von Wasser die Geschwindigkeit der Kristallisation nur geringfügig. Diese Tatsache äußert sich in den ähnlichen Ergebnissen zwischen den Wasserdampf- und Trockenexperimenten. Der Vergleich der von NEINHUIS et al. (2001) mit den hier durchgeführten Experimenten zeigt eindeutig, dass hauptsächlich eine Solvation der Wachsmoleküle durch Wasser beim Co-Transport durch die Membran die Rekristallisation fördert. Kontakte der Wachse mit Wasser auf der Oberfläche, auch in Form von Luftfeuchtigkeit, haben eher einen Einfluss auf die Wachsstrukturendichte während der Blattontogenese als auf die Morphologie (KOCH et al. 2006<sup>60</sup>).

Durchgeführte Experimente mit Ethanol in Form von Lösungsmitteldampf zur Unterstützung der Selbstorganisation lieferten besonders bei 25°C abweichende Resultate zu den „Trockenrekristallisationen“, während Abbildung 4.24 zeigt, dass die bei 50°C und Ethanoldampfpräsenz gebildeten Röhrchen den trocken gelagerten Exemplaren bei 50°C gleichen. Die Unterschiede zeigten sich also nur bei der niedrigen Lagerungstemperatur von 25°C (Abbildung 4.24 (a), (c) und (e)). Schon nach einem Tag sind Röhrchen zu sehen, deren schnelle Rekristallisation, im Vergleich zu den Trocken- und Wasserdampfexperimenten, auf das Lösungsmittel Ethanol zurückführbar ist. Dessen Einfluss bewirkt eine Absenkung der Aktivierungsenergie, so dass schon die Tempera-

tur von 25°C zur Röhrrchenbildung ausreicht. Dies wird einer höheren Solvatation und somit einer höheren Mobilität der Moleküle, als es mit Wasser der Fall ist, zugeschrieben. Zu beachten ist ebenfalls, dass durch den höheren Dampfdruck von Ethanol auch eine höhere Konzentration im Dampf herrscht. Obwohl sich das Lösungsmittel damit schneller verflüchtigt, ist es am Anfang der Rekristallisation präsent und kann seinen Einfluss auf die Keimbildung und diffundierenden Moleküle in den ersten Stunden ausüben. Die mit Hilfe von Ethanoldampf gebildeten Röhrrchen haben eine filigranere Struktur, ihr Durchmesser und ihre Länge sind um ca. 20% kleiner als bei den Röhrrchen, die bei 50°C rekristallisierten (Vergleich Abbildungen 4.24 (e) und (f)). Die höhere Temperatur ermöglicht, wie auch schon bei Wachsschuppen und -röhrrchen unter dem AFM beobachtet, dass sich viele kleine Keime zu Beginn der Rekristallisation zugunsten weniger großer umbilden (Oswald Reifung).

Vorhergehende Experimente mit Ethanoldampf zeigten, dass sich der Einfluss dieses Lösungsmittels auch negativ äußern kann. Dabei wurden keine offenen Systeme, wie z.B. Petrischalen, sondern gasdichte Glasröhrrchen verwendet. Durch den fehlenden Gasaustausch mit der Umgebung stieg die Konzentration an Ethanol in der Atmosphäre, was auch zur Adsorption/Kondensation auf den Proben führt. Die danach gebildeten Röhrrchen lagen alle parallel zur Oberfläche (Abbildung 4.25). Dieser Effekt kann auf der Tatsache beruhen, dass das Kondensat viel stärker die Moleküle solvatisieren und damit ihre Beweglichkeit erhöhen kann. Gleichzeitig werden schon gebildete Strukturen wieder aufgelöst; je mehr Kontaktfläche sie zum Lösungsmittel haben, desto mehr ist das der Fall. D.h., exponierte, freistehende Strukturen werden eher aufgelöst als flachliegende Objekte. Da die Konzentration an Ethanol mit der Zeit nicht abnimmt, weicht das System aus, indem mehr flachliegende Röhrrchen gebildet werden und somit das Gleichgewicht dieser Reaktion zugunsten dieser flachen Ausrichtung kippt. Eine nachfolgende Trocknung der Probe und weiterführende Lagerung bei 50°C zeigten jedoch keine Rückumwandlung der Probe zugunsten stehender Strukturen.

Zusätzlich zu den Rekristallisationsexperimenten, welche sich mit den Parametern Temperatur und Lösungsmittel beschäftigten, wurden ebenfalls Experimente zum Ein-

fluss des Substrats auf die Ausrichtung und Form der Röhrrchen durchgeführt. Die vorhergegangenen Rekristallisationen auf Glas konnten somit mit den Ergebnissen auf HOPG verglichen werden. Und ebenso wie bei Wachsschuppen konnten auch hier deutliche Unterschiede der beiden Substrateffekte beobachtet werden. Während ein Teil der Röhrrchen parallel liegt, steht der andere Teil senkrecht zur Oberfläche. Gleichzeitig sind diese Röhrrchen von einer größeren Struktur, d.h., die spiralförmigen Windungen sind im Gegensatz zu den vorherigen Rekristallisationen deutlich zu sehen. Die Tatsache, dass sich senkrecht stehende Röhrrchen bilden, konnte bisher nur bei Rekristallisationen aus Lösung beobachtet werden (KOCH et al. 2006<sup>58</sup>).

Aus den gezeigten Abbildungen konnten den in dieser Arbeit rekristallisierten Röhrrchen nur teilweise Ähnlichkeiten mit ihren nativen Gegenstücken zugesprochen werden. Während frühere Vergleiche kaum Unterschiede aufzeigten, konnten Aufnahmen mit einem leistungsstärkerem FE-REM zeigen, dass native Röhrrchen einen nicht so homogenen und einheitlichen Aufbau wie die rekristallisierten Röhrrchen haben. Eine Gegenüberstellung der Abbildungen 4.27 (nativ) und 4.28 (rekristallisiert) im Kapitel 4.3.4 hebt die Unterschiede hervor. Die natürlichen Röhrrchen haben, wie die senkrecht stehenden Röhrrchen auf HOPG, einen spiralförmigen Aufbau (eingekreiste Objekte), welcher durch zahlreiche Defekte geprägt ist. Zwei mit Pfeilen gekennzeichnete Röhrrchen zeigen auch, dass die Windungen bei der Röhrrchenbildung im oder gegen die Uhrzeigerichtung erfolgen kann. Bisher ist noch nicht geklärt, welche Variable den Drehsinn bestimmt. Eine Chiralität des Hauptbausteins Nonacosan-10-ol scheidet als Grund aus, da im natürlichen Wachs, welches hier verwendet wurde, lediglich das (S)-Enantiomer vorkommt (JETTER & RIEDERER 1994<sup>47</sup>). Ein Einfluss der enthaltenden Diole, welche für die Röhrrchenbildung nötig sind, kann nicht ausgeschlossen werden (KOCH et al. 2009<sup>59</sup>).

Sowohl die auf HOPG rekristallisierten als auch nativen Röhrrchen unterscheiden sich deutlich in ihrem Aufbau und ihrer Länge von denen auf Glas. Hochauflösende Aufnahmen des Profils zeigen keine spiralförmige Rillung, stattdessen sehen die Röhrrchen aus, als ob sich eine zusätzliche Wachsschicht um sie wickelt (eingekreis-



ter Bereich Abbildung 4.28). Eine mögliche Rekristallisation durch Aufrollen, wie z.B. bei einem Teppich, kann dennoch ausgeschlossen werden. Zum einen lassen die Enden (Pfeilmarkierung) weiterhin die Möglichkeit des Spiralwachstums offen, zum anderen konnte bisher kein anderer abweichender Wachstumsmechanismus bei Röhrenchen beobachtet werden (KOCH et al. 2006<sup>58</sup>). Durch die Verwendung des Wachsgemisches in Verbindung mit der höheren Temperatur von 50°C, welche die Rekristallisation stark beschleunigt, wäre es denkbar, dass andere Komponenten wie primäre Alkohole für diese Ummantelung verantwortlich sind. In diesem Fall wäre es ebenfalls denkbar, dass durch eine starke Wechselwirkung mit dem Röhrenchen als Substrat es zu keiner abstehenden, senkrecht zum Röhrenchen ausgerichteten Schuppenbildung, sondern zu dieser gekrümmten Anlagerung kommt.

Das abschließende Kapitel, welches sich mit Röhrenchen *und* Schuppen befasst, behandelt die Selbstorganisation beider Strukturen bei zeitgleicher Aufdampfung. Abbildung 4.29 zeigt nochmals einen zusammenfassenden Überblick der rekristallisierten Schuppen und Röhrenchen bei einer separaten Aufdampfung auf Glas ((a) und (c)) und HOPG ((b) und (d)). Bei Wachsgemischen unterschiedlicher Massenverhältnisse zeigten sich bei einigen Proben abweichende Ergebnisse. Bei einem Verhältnis von Octacosanol zu Tm-Wachs von 1:2,26 zeigen die REM-Abbildungen nach einem Tag kleine, schuppenähnliche Strukturen zwischen den ersten gebildeten Röhrenchen (Abbildung 4.30 (a)). Nach 3, 7 und 15 Tagen sind sie nicht mehr vorhanden, lediglich der Raum zwischen den Röhrenchen ist durch zusätzliches Wachs aufgefüllt. Der hohe Anteil an Nonacosanol für die Röhrenchen und die Tatsache, dass auch Tm-Wachs Octacosanol enthält, es aber auf der Pflanze zu keiner Schuppenbildung kommt, zeigt, dass Röhrenchen die thermodynamisch stabilere Struktur bei gegebenen Massenverhältnissen sind. Erst bei einem Verhältnis von 1,39:1 reicht die Menge an Octacosanol aus, um dauerhaft vorhandene Schuppen zu rekristallisieren (Abbildung 4.31). Eine Vermischung mit anderen primären Alkoholen oder gar anderen Stoffklassen des Tm-Wachses ist die wahrscheinlichste Erklärung für deren Abweichung in Form und Größe von den reinen Octacosanolschuppen. Aber auch einige der Röhrenchen, besonders nach 15 Tagen, weisen

Merkmale auf, die für einen Einbau oder Anlagerung von Nicht-Röhrchen-Bausteinen in oder an deren Struktur sprechen (Abbildung 4.31 (d)). Eine Verteilung von 3,99:1 (Octacosanol zu Röhrchenwachs) zeigt Parallelen zum 1:2,26-Verhältnis. Hier dominieren jedoch die Schuppen. Röhrchen, welche nach 1 Tag sichtbar sind, lösen sich in den nächsten zwei Tagen wieder auf (Abbildung 4.32 (a) und (b)), und gleichzeitig steigt die Schuppengröße beträchtlich an. Kantenlängen von über  $3\text{ }\mu\text{m}$  sind keine Seltenheit, zudem kommt es zu Verdrehungen und teilweisem Einrollen der Schuppen (Abbildung 4.32 (d)). Dieses Abweichen von einer flachen Struktur kann zwei Gründe haben. Zum einen kann es während der Bildaufnahme mittels REM (Dauer ca. 3:30 min) zu Deformationen durch den Elektronenstrahl kommen. Das beobachtete Material ist zwar organisch, ist jedoch von einer dünnen Edelmetallschicht (hier Gold) bedeckt. Deshalb sind Biegungen durch thermische Effekte, vergleichbar mit der stärkeren Ausdehnung einer Komponente bei Bimetallstreifen, bei solchen exponierten Strukturen, die den Elektronenfluss schlecht ableiten können, möglich. Ein Vergleich der Ausdehnungskoeffizienten von Gold, Graphit und Naturkautschuk zeigt Werte von  $\alpha = 12 \times 10^{-6}$  (Gold, SCHUMANN et al. 1958<sup>103</sup>),  $\alpha = 0,78 \times 10^{-5}$  (Graphit, BIERWERTH et al. 2007<sup>16</sup>) und  $\alpha = 140 \times 10^{-6}$  (Naturkautschuk, LANDOLT-BÖRNSTEIN 1967<sup>67</sup>) und somit deutliche Unterschiede der Stoffe. Eine einseitige Bestrahlung im REM oder eine ungleichmäßige vorherige Sputterung mit Gold in Verbindung mit unterschiedlicher Ausdehnung des Materials kann dann zu Deformationen führen.

Abbildung 4.41 zeigt eine Bildsequenz, in der deutlich die Verformung eines großen Wachskristalls zu sehen ist. Durch mögliche Spannung im Material und unterschiedliche Ausdehnungskoeffizienten biegt sich die Wachsschuppe und kehrt nach einiger Zeit fast vollständig in ihre Ausgangsposition zurück. Kleinere Wachsstrukturen werden von diesen Effekten nicht betroffen. Technisch bedingt wurde das erste Bild der Filmsequenz erst nach 2 s aufgenommen.

Die Abbildungen 4.41 (a) bis (d) zeigen die Verbiegung der Schuppe, (e) und (f) den langsamen Umkehrprozess nahezu bis zur Ausgangsposition.

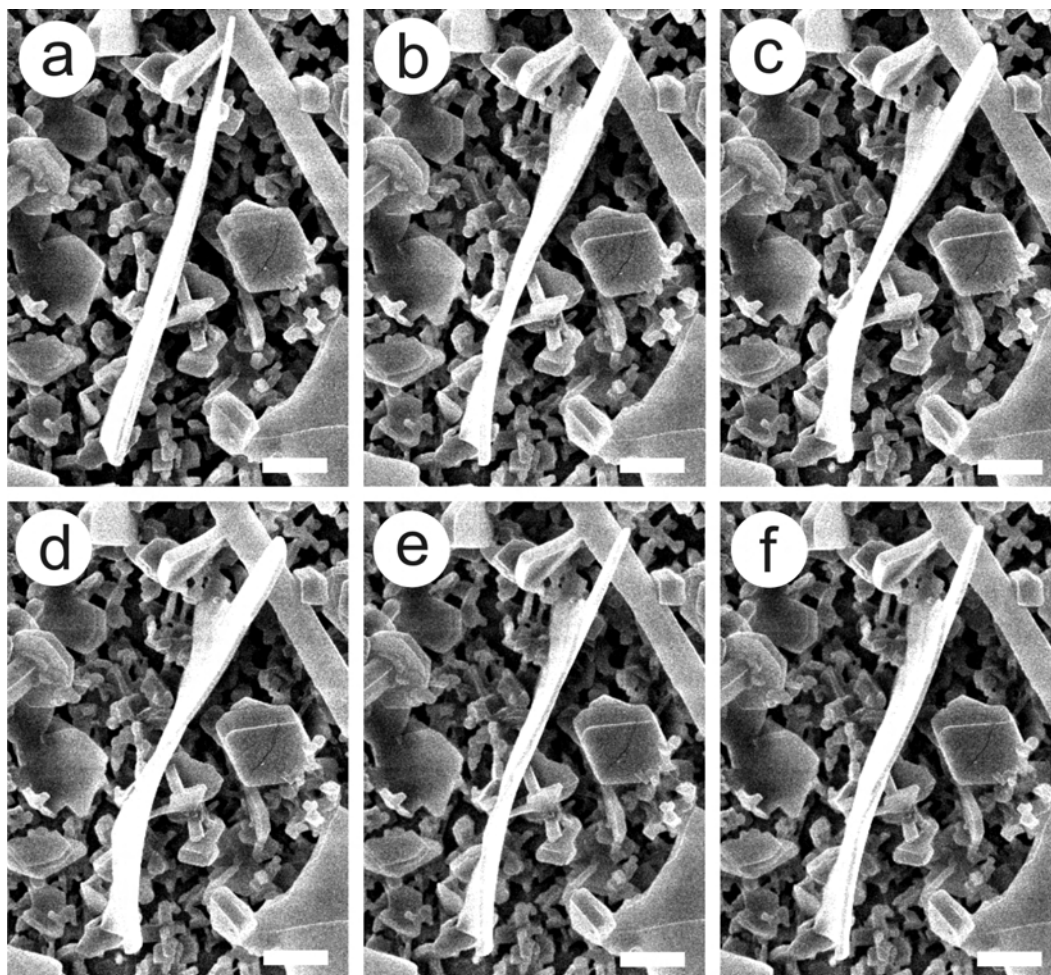


Abbildung 4.41: Bildsequenz einer durch den Elektronenstrahl hervorgerufenen Biegung eines Wachskristalls nach 2 (a), 7 (b), 12 (c), 17 (d), 32 (e) und 42 s, Skalen: 2  $\mu\text{m}$

Dennoch ist eine solche Erklärung in unserem Fall nicht zutreffend. Die Wahrscheinlichkeit, dass es zu solchen Deformationen während einer Bildaufnahme kommt und diese nicht aufgezeichnet werden, ist praktisch auszuschließen. Die Aufnahme selbst dauert 3,5 Minuten und erfolgt mittels eines Line-Scans, d.h. das Bild wird Zeile für Zeile zusammengebaut. Eine Bewegung der Probe würde folglich in einer Verschiebung einzelner Zeilen, etwa vergleichbar mit der Drift einer Probe im STM, resultieren. Daher ist der Einbau von „Fremdmolekülen“ in die Kristalle viel wahrscheinlicher. Die Proben weisen Bereiche mit eingerollten, runden und flachen, ebenen Zonen auf. Ein solcher Einbau erfolgt demzufolge eher bereichsweise und nicht homogen, folglich könnten ein-

kristalline Zonen mit nur einer Molekülart entstehen. Ein weiteres Indiz sind die in der untergelagerten Schicht (gut sichtbar in Abbildung 4.33) sichtbaren Wachsschuppen, jedoch das Fehlen von Röhrchen. Nonacosanol in Verbindung mit Octacosanol kann für die Bildung der großen Kristalle verantwortlich sein.

Der abschließende Teil dieses Kapitels befasst sich mit der Rekristallisation von Wachsfilmern. Epikutikulares Wachs von Zitronenblättern diente als Material für die Rekristallisations- und GC-MS-Experimente. Zu diesen Analysen zählt vor allem der Nachweis der Kristallinität von Wachsfilmern. Neben der Röntgenbeugung sind die Ergebnisse der Höhenvermessung im AFM ein weiterer Beweis gegen die sich hartnäckig haltende Annahme, Filme seien amorph. Abbildung 4.34 zeigt ein Höhen- und Regelsignalsbild (height und deflection images) von per Cryomethode abgehobenem Wachs der Unterseite eines Zitronenblattes. Aufgrund seiner geringen Dicke und Ebenheit wurde das Wachs der Blattunterseite der dickeren Wachskruste der Oberseite bevorzugt. Die Auswertung der Abbildung ergab innerhalb des Wachsfilms eine durchschnittliche Schichtdicke von  $6,876\text{ nm}$ , was ca. 2 Moleküllängen von Octacosanol oder ähnlichen Molekülen entspricht. Tatsächlich sind Moleküle dieser Länge per GC/MS nachgewiesen worden. Eine senkrechte Ausrichtung der Moleküle führt zu parallel zur Oberfläche ausgeprägtem Wachstum, welches in den hier beobachteten Wachsschichten resultiert. Es ist mit dem Frank-van-der-Merve-Modell beschreibbar, welches von einem schichtweisen Wachstum, hier als Moleküldoppelschicht, ausgeht <sup>9</sup>.

Deutlicher als bei der Rekristallisation von Röhrchen oder Schuppen wirkt sich hier der Substrateffekt auf die Form der Wachse aus. Bei einer Rekristallisation aus Lösung bilden sich auf Glas nach einem Tag Inseln mit dendritischen Ausläufern aus, was im Gegensatz zu Schuppen- und Röhrchenwachsen, welche nach Auftragung und Evapo-

---

<sup>9</sup>Im Gegensatz dazu herrscht bei der Rekristallisation von Octacosanolschuppen auf HOPG das Volmer-Weber-Wachstum, bei dem sich keine Schichten, sondern direkt hohe Inseln, in unserem Fall Schuppen, bilden. Eine Rekristallisation von Schuppen auf Glas beschreibt das dritte Modell von Stranski und Krastanov. Hierbei bildet sich zuerst eine Schicht, auf der Insel- und damit Schuppenwachstum erfolgt.

ration des Lösungsmittels Ringe mit unterschiedlicher Konzentration bilden („Coffee-Drop“-Effect), steht. Solche dendritischen Ausläufer entstehen normalerweise durch diffusionsbegrenzte Aggregation, wenn also Teilchen oder Moleküle aus der Umgebung zur Mitte einer solchen Insel auf zufälligem Weg diffundieren. Die Wahrscheinlichkeit bestimmt, dass ab einer bestimmten Größe und Dichte der Dendriten die Teilchen nur noch an deren Enden anlagern können, Wachstum im Zentrum zur Schließung der Lücken ist nicht mehr möglich.

Da die Abbildung 4.35 zum Teil mehrschichtiges Wachstum zeigt, kann eine umgekehrt verlaufende Ausbreitung der Wachsschicht nicht ausgeschlossen werden. Dabei diffundieren Moleküle einer größeren Wachsmasse zum Rand, über die Schwöbel-Barriere, an die untere Stufenkante. Nach dem Erreichen einer Größe oder eines bestimmten Abstand der Moleküle zum Rand der darunterliegenden Terrasse ist es weiteren Molekülen nicht möglich, über den Rand herunter zu diffundieren. Stattdessen steigt die Wahrscheinlichkeit der Nukleation und Inselbildung auf den Inseln (siehe auch HOMMES 2010<sup>42</sup>). Auch ein Fehlen von Anisotropie, welches Wachsrekristallisationen auf technischen Oberflächen auszeichnet, fällt bei Wachsfilmern aus (KOCH et al. 2004<sup>61</sup>).

Die rekristallisierten Strukturen auf HOPG haben keine Ähnlichkeit mit Wachsfilmern. Zwar ist auch hier dendritisches Wachstum erkennbar, jedoch ist es dreidimensional und durch die Substratgeometrie beeinflusst. Hier werden Parallelen zu Octacosanolschuppen erkennbar. Auf polaren Oberflächen wie Glas richten sie sich parallel zur Oberfläche aus, auf HOPG senkrecht. Dreidimensionales Wachstum sollte bei Wachsfilmern gar nicht auftreten, jedoch kommt es eindeutig dazu (Abbildung 4.36). Eine Auftrennung der Komponenten und separate Rekristallisation ist der wahrscheinlichste Grund. Ein zusätzliches Experiment zur Rekristallisation eines Wachsgemisches aus Octacosanol und Hentriacontan im Verhältnis von 1:3 (siehe Verhältnis prim. Alkohole zu Alkanen im Zitronenblattwachs der Unterseite im Kapitel 3.3.2) lieferte ebenfalls Schuppen als Ergebnis. Allerdings könnte die dabei eingestellte Temperatur von 50°C diese Trennung begünstigt haben, so wie dies Chloroform als Lösungsmittel ebenfalls

tut.

Die Abbildungen 4.37 und 4.38 zeigen Rekristallisationsergebnisse nach 10 Tagen. Bei (a) bildeten sich kleine Strukturen, die keine Ähnlichkeit mit dem nativen Wachsfilm auf der Blattunterseite (b) haben. Auf HOPG sind wiederum dendritische Strukturen sichtbar, wobei sich lokale Ausnahmen zeigten. Abbildung 4.39 zeigt ein hexagonal geordnetes Netzwerk aus flachen Wachsschuppen, was wahrscheinlich auf eine lokal abnehmende Konzentration an Wachs zurückzuführen ist. Hierbei ist eine Maskierung des Substrateffektes durch hohe Wachsmassen nicht gegeben.

Als Gesamtfazit lässt sich sagen, dass die durchgeführten Rekristallisationen von Schuppen und Röhrchen gelungen sind. Der Einfluss der Temperatur allein oder im Zusammenspiel mit Lösungsmitteln konnte erfolgreich untersucht werden. Dabei stellte sich heraus, dass bei Trockenrekristallisationen von Röhrchen eine Mindesttemperatur von 40°C notwendig ist, bei Nutzung einer Ethanol dampfatmosphäre reichen 25°C aus. Wasser hat in Form einer Dampfatmosphäre nur einen minimalen Einfluss auf die Rekristallisierung. Eine Solvation der Moleküle vor der Rekristallisation, wie bei der Pflanze, oder einer Rekristallisation aus der Lösung wäre vielversprechender. Mischexperimente mit Schuppen und Röhrchen zeigten, dass die massenreichere Fraktion auch dominiert, allerdings wird sie von der anderen Struktur mit beeinflusst. Die Selbstorganisation der Wachsfilme misslang. Durch eine Trennung und Selbstorganisation einiger der Stoffklassen wurde statt Film- ein Strukturwachstum erzielt. Erfolgreicher verlief der Versuch, die Aktivierungsenergie für Diffusion der röhrchenbildenden Moleküle zu ermitteln. Dabei wurden Werte gefunden, die verstärkt auf Volumendiffusion deuten.

## Kapitel 5

# Einfluss von Tensiden auf die Stabilität der Wachse

Dieses Kapitel befasst sich mit dem Einfluss von Tensiden auf epikutikulare Wachse, einem Thema, welches in der konventionellen Landwirtschaft von großem Interesse ist. Der Einsatz von verschiedenen Wirkstoffen, seien es Herbizide, Pestizide oder Fungizide, bedarf der Tenside als Hilfsmittel, die den Hauptbestandteilen beigemischt werden. Deren Aufgabe ist es, dank ihrer niedrigen Oberflächenspannung, die Wirkstoffe auf der Pflanzenoberfläche zu verteilen. Gute Benetzungseigenschaften sorgen durch Spreitung der Lösung für eine homogene Verteilung der Wirkstoffe. Die natürliche Wasserabweisung der meisten pflanzlichen Oberflächen bedingen, dass ein Großteil der Tensidlösung samt Wirkstoffen von der Pflanzenoberfläche abläuft, im Erdreich versickert und somit seine Wirkung nicht entfalten kann. Eine Optimierung der Benetzungseigenschaften wäre zum Vorteil für den Landwirt, die Industrie und vor allem für die Umwelt.

Dennoch ist eine solche Optimierung nicht Ziel dieser Arbeit; dieses liegt vielmehr im Bereich der Grundlagenforschung und der damit verbundenen Klärung des Einflusses des in dieser Studie verwendeten Tensids AGNIQUE SBO 10<sup>1</sup>. Weiterhin soll dessen Einfluss auf die chemische Stabilität der Wachsstrukturen und damit auf die

---

<sup>1</sup>ein ethoxyliertes Triglycerid mit durchschnittlich 10 Ethoxygruppen, Cognis GmbH, Monheim, Deutschland, siehe auch Kapitel 2.8.1

Benetzungseigenschaften der Wachse dokumentiert werden. Ein Vergleich der Eignung von rekristallisierten Wachsstrukturen auf technischen Oberflächen mit der der Pflanze für Benetzungs- und Applikationsversuche schließt die Experimente des Kapitels ab.

## 5.1 Tensideinfluss

Im Rahmen der Untersuchungen wurden luftgetrocknete Blattproben von *Tropaeolum majus* L. und die auf Glas rekristallisierten Wachsröhrchen als Untersuchungsobjekte gewählt. Die Konzentration der genutzten Tensidlösung betrug 1 g/l bzw. 0,1 g/l. Das Applizieren von 5  $\mu$ l großen Tropfen erfolgte durch das Kontaktwinkelmessgerät, welches schon zuvor für die Ermittlung der Hysterese, des statischen Kontaktwinkels und des Abrollwinkels genutzt worden ist<sup>2</sup>. Zusätzlich wurden Experimente durchgeführt, bei denen ein ca. 40  $\mu$ l großer Tropfen aufgetragen und nach einer bestimmten Zeit wieder abgerollt war bzw. bei stärkerer Haftung mittels Schütteln entfernt wurde. Die Dokumentation der Ergebnisse erfolgte mit dem Lichtmikroskop (siehe Kapitel 2.5.1), dem REM und anhand von Kontaktwinkeldaten. Weiterhin wurden 40  $\mu$ l Tropfen auf den rekristallisierten Wachsstrukturen eingetrocknet und dann auf diesen Stellen Kontaktwinkelmessungen mit Wasser und beiden Tensidkonzentrationen durchgeführt. Damit sollen mögliche Änderungen der Kontaktwinkel auf bestehenden Tensidschichten und Wachsstrukturen, welche (zum Teil) mit Tensid bedeckt sind, zu den Kontaktwinkeln der nativen und rekristallisierten Wachsstrukturen ohne Tensid aufgezeigt werden.

---

<sup>2</sup>Durch die superhydrophoben Benetzungseigenschaften der Wachse, sowohl der auf den nativen, als auch der auf den rekristallisierten Oberflächen, erwies sich das Applizieren der Tropfen zum Teil als schwierig. Deshalb musste die Nadel des Kontaktwinkelmessgeräts hydrophobisiert werden, damit die Adhäsionskräfte der Oberfläche zum Tropfen größer als die zur Nadel wurden (Antispread E 2/100, Dr. Tillwich GmbH, Horb-Ahldorf, Deutschland).



### 5.1.1 Berechnung der abgeschiedenen Tensidmenge

Bisherige Untersuchungen zeigen, dass Tenside aufgrund ihres chemischen Charakters die Fähigkeit haben, epikutikulare Wachsstrukturen zu verändern, oder gar aufzulösen (NOGA & BARTHLOTT 1987<sup>82</sup>). Da die hier durchgeführten Experimente unterschiedliche Ergebnisse brachten, kann eine solche eindeutige Aussage nicht gemacht werden. Zum einen sehen die Wachsröhrchen angelöst aus, ihre terminale Öffnung ist nicht mehr zu sehen. Zum anderen besteht die Möglichkeit, dass das abgeschiedene Tensid eines einzigen Tropfens ausreicht, um den Großteil der Wachsstrukturen zu überdecken und somit zu maskieren. Eine Berechnung des Verhältnisses der Tensidmasse in einem einzigen Tropfen zu der Kontaktfläche ergibt eine Bedeckungsmenge, die man mit der Menge der aufgedampften Wachsröhrchen bei den vorherigen Rekristallisationen vergleichen kann. Bei rekristallisierten Röhrchen bewegt sich der Wert um  $40 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Bei Konzentrationen von  $0,1 \text{ g/l}$  bzw.  $1 \text{ g/l}$  betragen die Tensidmassen eines  $5 \mu\text{l}$   $0,5 \mu\text{g}$  bzw.  $5 \mu\text{g}$ . Die applizierten Tropfen, die gezielt eingetrocknet wurden, um darauf Kontaktwinkelmessungen durchzuführen, hatten ein Volumen von  $40 \mu\text{l}$ , was einer Menge von 4 bzw.  $40 \mu\text{g}$  an Tensid entspricht. Die Berechnung der Fläche des eingetrockneten Tensids gestaltete sich schwer, da auch hier das Phänomen des „Coffee-Drop“-Effekts eintritt. Es bildet sich ein Ring hoher Konzentration von AGNIQUE SBO 10, während das Zentrum der Applikation nur minimale Änderungen zeigt. Deshalb sind alle Berechnungen zur Tensidverteilung von einem einige  $\mu\text{m}$  dünnen Tensidring ausgegangen. Zudem erwies es sich als unmöglich, die exakte abgeschiedene Tensidmenge eines applizierten Tropfens, der nur kurzfristig Kontakt mit der Probe hatte, zu berechnen. Tabelle 5.1 listet die verschiedenen Flächengrößen und entsprechenden Tensidmengen auf. Die aus den größeren Volumina entstandene geringere Kontaktfläche resultiert aus der Tatsache, dass der entstandene Ring deutlich konzentrierter war und somit das Tensid weniger Fläche einnahm.

Tabelle 5.1: Aufstellung der Tropfenvolumina, der ringförmigen Kontaktfläche des eingetrockneten Tensidtropfes sowie der Tensidmenge und des Bedeckungsgrades

Volumen [ $\mu\text{l}$ ]	Kontaktfläche [ $\text{cm}^2$ ]	Tensidmenge [ $\mu\text{g}$ ]	Bedeckungsgrad [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ]
5	0,064	0,5	7,812
5	0,085	5	58,823
40	0,058	4	8,582
40	0,070	40	71,885

Basierend auf diesen Werten kann, vor allem bei einer Konzentration von 1 g/l, eine Maskierung der Wachsstrukturen nicht mehr ausgeschlossen werden, da die durchschnittliche Bedeckung mit Wachs bei ca. 40  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  liegt und nicht alle Wachskomponenten zur Strukturbildung beitragen. Deshalb werden in dieser Arbeit weiterhin die Begriffe „Veränderung“ und „Maskierung“ anstelle von „Auflösung“ verwendet.

### 5.1.2 Kontaktwinkeldaten

Zur Erfassung der Änderung der Benetzung von Wachsstrukturen auf pflanzlichen und nicht biologischen Oberflächen wurden Kontaktwinkelmessungen durchgeführt. Dabei dienten Blätter von *Tropaeolum majus* L. mit natürlichen Wachsröhrchen und Glasoberflächen mit rekristallisierten Röhrchen als Untersuchungsobjekte. Als dritte Messreihe wurde der Vergleich der Benetzungseigenschaften von SBO 10 verschiedener Konzentrationen mit reinem Wasser auf einer Glasoberfläche ohne Wachsstrukturen in Abhängigkeit von Zeit durchgeführt. Dabei wurden die 5  $\mu\text{l}$  Tropfen auf Objektträger (Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) appliziert. Die daraus resultierenden Kontaktwinkeldaten sind im Diagramm 5.1 dargestellt.

Während der statische Kontaktwinkel des Wassertropfens innerhalb von 120 s nur minimal, bedingt zum Teil durch nahezu konstante Verdunstung, von  $29,94^\circ \pm 1,32^\circ$  auf  $29,68^\circ \pm 1,45^\circ$  abnimmt, wurde eine deutlich größere Veränderung des Kontaktwinkels bei beiden Tensidkonzentrationen sichtbar. Der Wert der 0,1 g/l Lösung fällt von  $27,35^\circ \pm 1,63^\circ$  (5 s nach der Applikation) auf  $21,27^\circ \pm 0,99^\circ$  (nach 120 s), bei der hö-

heren Konzentration von 1 g/l fällt er von  $25,68^\circ \pm 0,92^\circ$  (nach 5 s) auf  $10,18^\circ \pm 1,58^\circ$  (nach 120 s). Während der Abnahme des Kontaktwinkels (Spreitung) liegt die leichte Abweichung, bedingt durch Verdunstung, im Messfehlerbereich und ist nicht explizit auswertbar (siehe abnehmender Kontaktwinkel des tensidfreien Tropfens auf Glas, Abbildung 5.1).

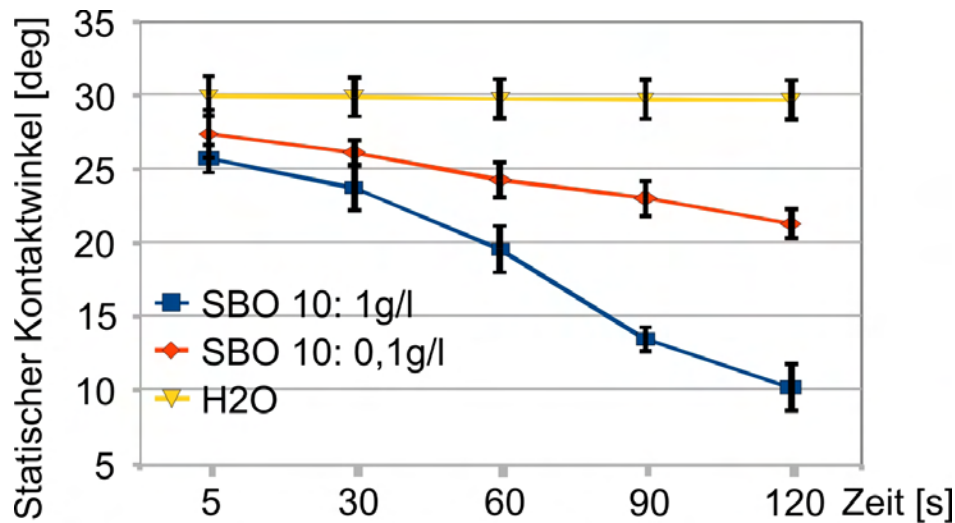


Abbildung 5.1: Kontaktwinkeldaten der Benetzungsversuche einer Glasoberfläche mittels SBO 10 mit Konzentrationen von 0,1 und 1 g/l

Die statischen Kontaktwinkel der 5  $\mu$ l Tropfen (Konzentration: 0,1 und 1 g/l) nach der Applikation von SBO 10 auf einem Blatt werden im Diagramm 5.2 dargestellt. Zum Vergleich, der Kontaktwinkel von tensidfreiem Wasser auf den Blättern von *Tropaeolum majus* L. beträgt mehr als  $160^\circ$ .

Die statischen Kontaktwinkel der 0,1 g/l Tensidtropfen sind deutlich niedriger als die von tensidfreien Wassertropfen. Mit Werten von  $111,27^\circ \pm 5,66^\circ$  (nach 5 s),  $110,26^\circ \pm 5,21^\circ$  (nach 120 s) und  $108,76^\circ \pm 4,86^\circ$  (nach 240 s) zeigen sie eine leichte, aber kontinuierliche Spreitung des Tropfens (obere Linie im Diagramm). Eine Komplettspreitung, die einem Kontaktwinkel von  $0^\circ$  entsprechen würde, konnte nicht beobachtet werden. Die Kontaktwinkel der höher konzentrierten Lösung zeigen ebenfalls eine kontinuierliche Spreitung an, diese läuft aber von  $88,46^\circ \pm 7,99^\circ$  (nach 5 s) über

$81,53^\circ \pm 7,77^\circ$  (nach 120 s) bis auf  $71,31^\circ \pm 9,89^\circ$  (nach 240 s) deutlich schneller und stärker ab. 360 bis 480 s nach Applikation konnte an einigen Tropfen dieser Konzentration eine Komplettspreitung beobachtet werden.

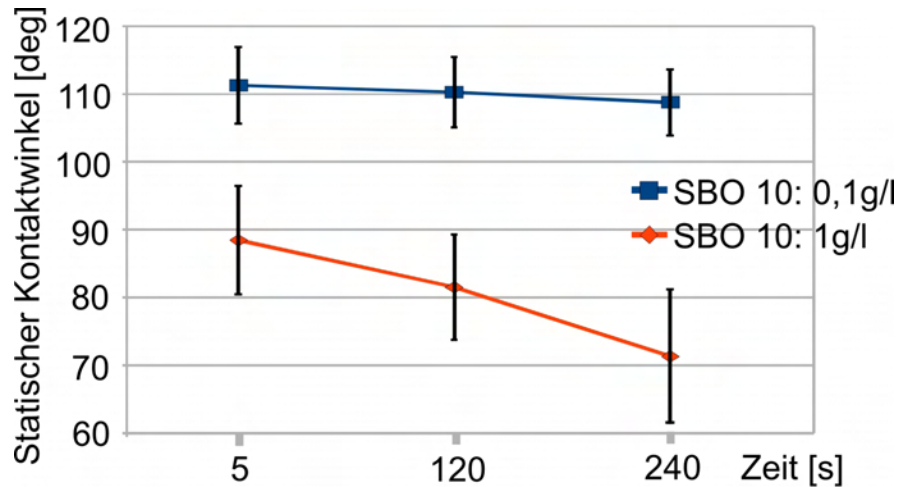


Abbildung 5.2: Kontaktwinkeldaten der Benetzungsversuche auf intakten Wachsstrukturen der Blätter von *Tropaeolum majus* L. mittels SBO 10 mit Konzentrationen von 0,1 und 1 g/l

Die Ergebnisse der Messungen auf rekristallisierten Röhrchen (Wachsbedeckung =  $39,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) sind graphisch in Diagramm 5.3 dargestellt.

Die hier gemessenen Kontaktwinkel zeigen ein merklich verändertes Benetzungsverhalten gegenüber den nativen Wachsen auf Blättern. Die niedrig konzentrierten Tensidtropfen weisen einen Kontaktwinkel von  $119,81^\circ \pm 3,02^\circ$  (nach 5 s) auf. Mit der Zeit nimmt dieser auf  $112,15^\circ \pm 1,82^\circ$  (nach 120 s) und letztendlich auf  $107,9^\circ \pm 1,49^\circ$  (nach 240 s) ab. Die 1 g/l Lösung zeigt stärkeres Spreitungsverhalten, der Kontaktwinkel sinkt von  $105,95^\circ \pm 3,13^\circ$  (nach 5 s), über  $99,2^\circ \pm 3,61^\circ$  (nach 120 s) auf  $93,43^\circ \pm 3,32^\circ$  (nach 240 s). Trotz eines ähnlichen Verhaltens der abnehmenden Benetzungseigenschaften zeigen sich Unterschiede im Spreitungsverhalten zu den Benetzungsmessungen auf der wachsfreien Glasoberfläche und vor allem zu den Messungen auf der Blattoberfläche. Eine wichtige Feststellung sind die niedrigeren Anfangswerte (nach 5 s) bei den nativen Röhrchen. Zudem konnte bei diesen Proben auch nach der Messzeit von 240 s

keine Totalspreitung der höher konzentrierten Lösung festgestellt werden, obwohl zuvor Messungen mit reinem Wasser die gleichen Benetzungseigenschaften ( $163,8^\circ \pm 2,2^\circ$ , NIEMIETZ2009<sup>81</sup>) wie beim Wachs der Blätter nachwiesen.

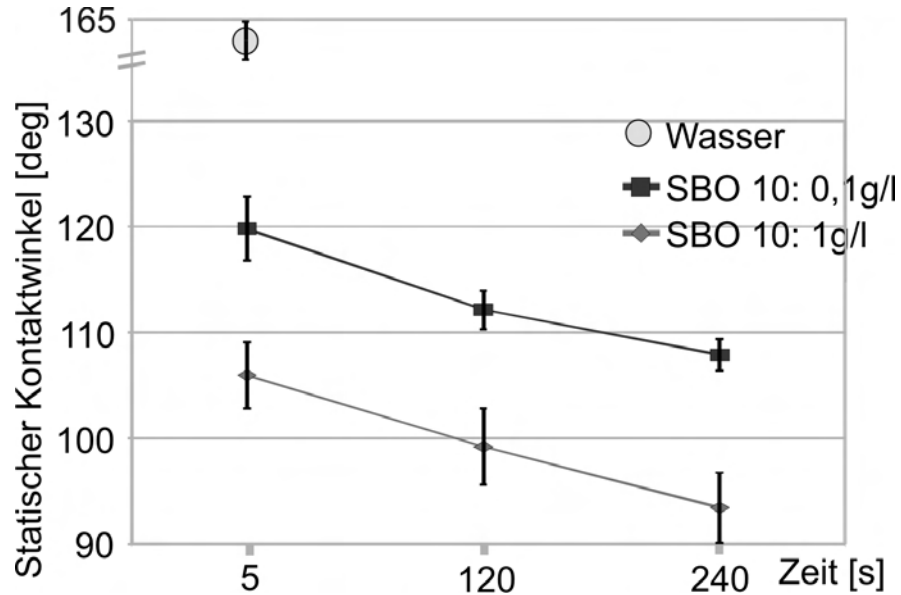


Abbildung 5.3: Kontaktwinkeldaten der Benetzungsversuche auf rekristallisierten Wachsstrukturen von *Tropaeolum majus* L. auf Glas mittels SBO 10 mit Konzentrationen von 0,1 und 1 g/l, Wachsbedeckung =  $39,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , Vergleichswert aus vorherigen Messungen mit reinem Wasser:  $163,8^\circ \pm 2,2^\circ$

Die Veränderungen im Benetzungsverhalten beim Einsatz von Tensiden sollten zudem nach der Applikation und Eintrocknung der Tropfen festgehalten werden. Dazu wurden die eben beschriebenen Experimente auf rekristallisierten Wachsröhrchen wiederholt. Es wurden, neben der Gewinnung der Kontaktwinkeldaten, auch REM-Bilder der mit Tensid bedeckten Oberflächen, welche in Kapitel 5.1.4 (Abbildung 5.8) zu sehen sind, aufgenommen. Diese Abbildung zeigt zum Vergleich die Grenze des eingetrockneten Tropfens auf einer nativen Blattoberfläche von *Tropaeolum majus* L. Auf den nativen und rekristallisierten Flächen wurden  $40 \mu\text{l}$  große Tropfen appliziert und eingetrocknet (Tensidbedeckung bei 0,1 g/l =  $8,582 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , bei 1 g/l =  $71,885 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), so dass sich eine entsprechende Schicht auf den Wachsstrukturen bildete. Diese wies

aber keine homogene Verteilung auf, sondern einen Konzentrationsgradienten in Form des „Coffee-Drops“. Die durchgeführten Messungen erwiesen sich als schwierig, da die Mitte fast kein Tensid aufwies, während der Rand eine hohe Tensidbedeckung aufwies. Die Tropfen sind sofort von der superhydrophoben Mitte des getrockneten „Coffee-Drops“ zum hydrophilen Rand hin gerollt. Deshalb beziehen sich die Angaben zur Tensidbedeckung auf den gebildeten Tensidring. Auf ihm wurde erneut die Bestimmung der Kontaktwinkel und der Hysterese durchgeführt, dazugehörige Ergebnisse sind in Tabelle 5.2 zusammengefasst.

Tabelle 5.2: Kontaktwinkel und Hysterese von Wasser und zweier Tensidkonzentrationen (0,1 und 1 g/l) auf mit eingetrockneten Tensiden (eingetrocknete Tensidbedeckung bei 0,1 g/l = 8,582  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , bei 1 g/l = 71,885  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) überzogenen rekristallisierten Röhrchen

Tensidkonzentration applizierter Tropfen [g/l]	Tensidbedeckung [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ]	Kontaktwinkel [deg]	Hysterese [deg]
Wasser pur	8,582	21,73 $\pm$ 3,31	27,83 $\pm$ 3,89
Wasser pur	71,885	16,85 $\pm$ 3,7	17,05 $\pm$ 2,45
0,1	8,582	17,85 $\pm$ 6,75	32,45 $\pm$ 5,43
0,1	71,885	16,18 $\pm$ 1,49	18,88 $\pm$ 2,95
1	8,582	17,7 $\pm$ 2,38	10,65 $\pm$ 3,93
1	71,885	15,35 $\pm$ 2,82	17,73 $\pm$ 2,95

Die sprunghaften Werte in Tabelle 5.2, vor allem die der Hysterese, spiegeln die Schwierigkeiten der durchgeführten Messungen wider. Die mittig applizierten Tropfen rollten zum Rand des eingetrockneten Tensidringes und verfälschten dadurch das Ergebnis. Trotz dieser Tatsache ist, da sich alle Tropfen mit dem Abrollen zum Rand ähnlich verhielten, ein leichter Trend erkennbar. Je höher die Konzentrationen des Tensids im aufgetragenen Tropfen und des eingetrockneten Tensids sind, desto geringer ist der statische Kontaktwinkel.

### 5.1.3 Lichtmikroskopie

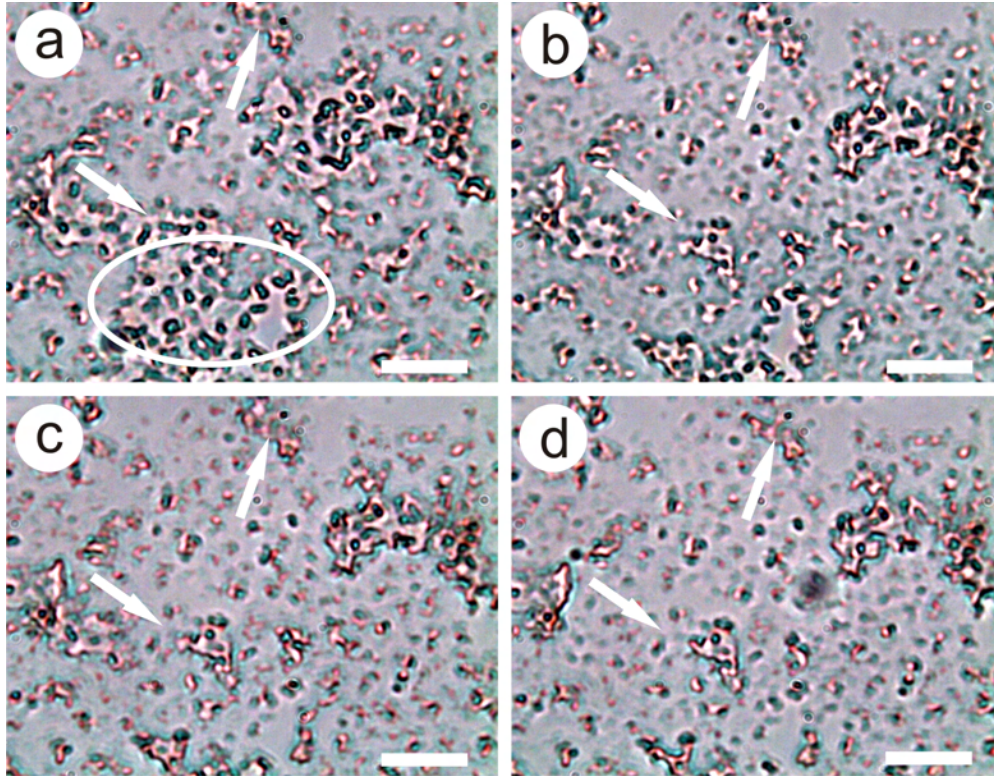


Abbildung 5.4: Details der Veränderungen an mittels Cryomethode abgehobenen Wachsröhrchen der Kapuzinerkresse durch die Zugabe einer 1 g/l SBO 10 Lösung nach 60 s (a), 180 s (b), 300 s (c) und nach 600 s (d); der eingekreiste Bereich zeigt eine größere Luftblase, die mit der Zeit schrumpft, die Pfeile zeigen zwei Bereiche mit Wachsröhrchen auf, welche ebenfalls mit der Zeit verschwinden; Vergrößerung: 1000 x, Skalen: 4  $\mu\text{m}$ )

Neben der REM wurde auch die klassische Oberflächenbeobachtung per Lichtmikroskopie, zur Nachvollziehung der Veränderungen der Wachsstrukturen durch Tenside, genutzt. Diese ermöglicht die kontinuierliche Beobachtung der stetigen Änderungen auf der Oberfläche, welche in unserem Fall eine Wachsoberfläche war, die mittels der Cryo-Methode von einem Kapuzinerkresseblatt abgehoben und auf die Glasoberfläche übertragen wurde (siehe auch Kapitel 2.3). Im Versuch wurde die zu untersuchende

Oberfläche mit Wasser benetzt und mit einem Deckgläschen bedeckt. Die Unbenetzbarkeit der Wachsstrukturen äußerte sich dadurch, dass der eingeschlossene Tropfen nicht die gesamte Oberfläche bedeckte. In Abbildung 5.4 ist diese eingeschlossene Luft als große Fläche zwischen den Strukturen sichtbar (Kreis in Abbildung (a)). Um das Wasser gegen die Tensidlösung auszutauschen, wurde von einer Seite das Wasser mittels Löschpapier abgezogen und dadurch automatisch von der anderen Seite die Tensidlösung per Kapillarkraft eingesogen. Nach 60 (a), 180 (b), 300 (c) und 600 s (d) wurden Bilder der Oberflächen aufgenommen. Pfeile markieren einen Bereich, wo Röhrchen mit fortlaufender Versuchsdauer verschwinden.

Wie in der Abbildung 5.4 zu sehen, nehmen auch die Luftblasen mit der Zeit ab. Diese Abnahme zeigt, dass die Herabsetzung der Oberflächenspannung des Wassers durch Tenside die Benetzbarkeit erhöht und dadurch die eingeschlossene Luft, auch zum Teil durch die am Anfang vorherrschende Strömung beim Austausch, entweichen kann. Dies kann als indirekter Hinweis für die Veränderung der Wachsstrukturen gedeutet werden. Nach 600 s ist die Probe nahezu vollständig benetzt. Eine mögliche Rekristallisation der Wachsröhrchen konnte auch nach 10 Tagen nicht beobachtet werden.

#### 5.1.4 Rasterelektronenmikroskopie

Die bisherigen Ergebnisse wurden auch mittels Rasterelektronenmikroskopie dokumentiert. Als Proben fungierten native und rekristallisierte Röhrchen von *Tropaeolum majus* L. Die folgenden Abbildungen zeigen Veränderungen an beiden Wachsen, die durch eine 30 s dauernde Applikation eines 40  $\mu$ l Tropfens mit einer Tensidkonzentration von 1 g/l ausgelöst worden sind. Die Pfeile markieren zwei Bereiche mit maskierten Wachsstrukturen, die Ellipse zeigt zum Vergleich unveränderte Röhrchen.

Abbildung 5.5 zeigt eine Übersicht der Wachse nach Kontakt mit der Tensidlösung. Der gesamte Bereich wurde der Tensidlösung ausgesetzt, allerdings konnten durch die superhydrophoben Eigenschaften der Wachse, die kurze Einwirkzeit, die Doppelstruktur der Pflanze (zweistufige hierarchische Strukturierung der Blattoberfläche zur



Senkung der Benetzungseigenschaften) und die Tensidkonzentration von 1 g/l keine Veränderungen auf dem gesamten Blatt hervorgerufen werden.

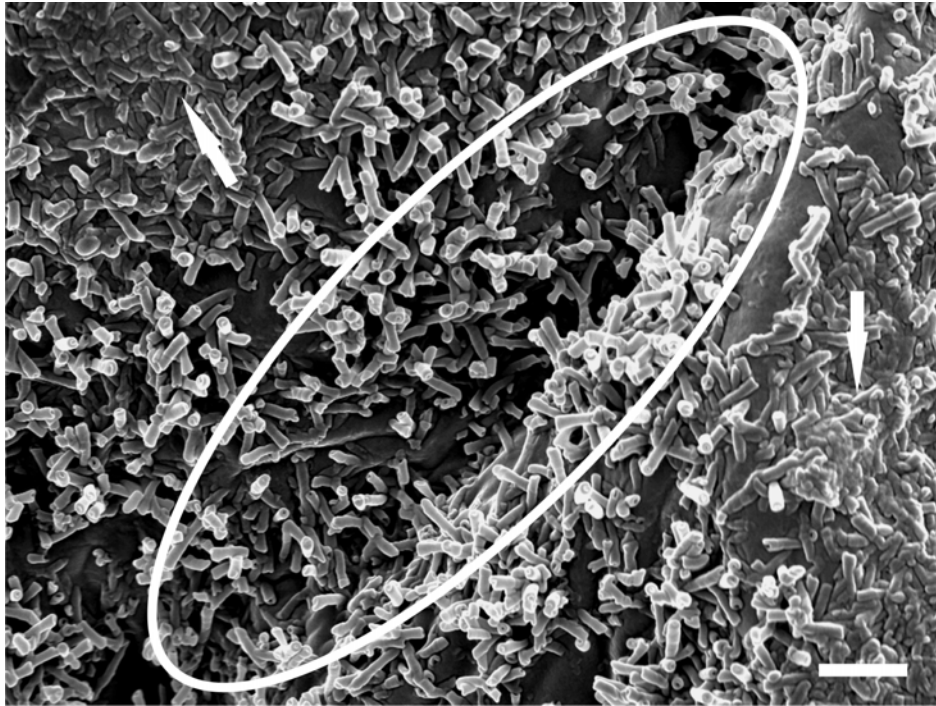


Abbildung 5.5: Sichtbare Veränderungen an den Wachsstrukturen durch Applikation von Tensidtropfen auf einem Blatt von *Tropaeolum majus* L., mit Pfeilen markierter Bereich ist maskiert und zum Teil verklumpt worden, der Zwischenraum (eingekreist) ist unverändert geblieben, Skala: 1  $\mu\text{m}$

Die mit den Pfeilen markierten nach außen gewölbten Bereiche standen in Kontakt mit dem Tensid, der eingekreiste, tieferliegende Bereich nahe der Zellwandgrenzen nicht. In dieser Zone sind alle Wachsstrukturen intakt geblieben. Die Bereiche zwischen den exponierten und nun flachliegenden Wachsstrukturen sind aufgefüllt worden, sei es durch abgeschiedenes Tensid, welches im Tropfen nur kurzen Kontakt zur Oberfläche hatte oder durch eine Kippung der Wachsröhrchen. Die Änderung der Ausrichtung ist deutlich sichtbar. Da die Blätter vorsichtig behandelt wurden und vor den Tensidexperimenten erhobene Kontaktwinkeldaten mit Wasser auf eine unbeschädigte Oberfläche deuteten, können diese Änderungen nur durch Applikation von Tensiden hervorgeru-

fen worden sein. Abbildung 5.6 zeigt eine Vergrößerung des betroffenen Bereichs, links oben im Bild die veränderten Wachse, rechts die intakten Strukturen.

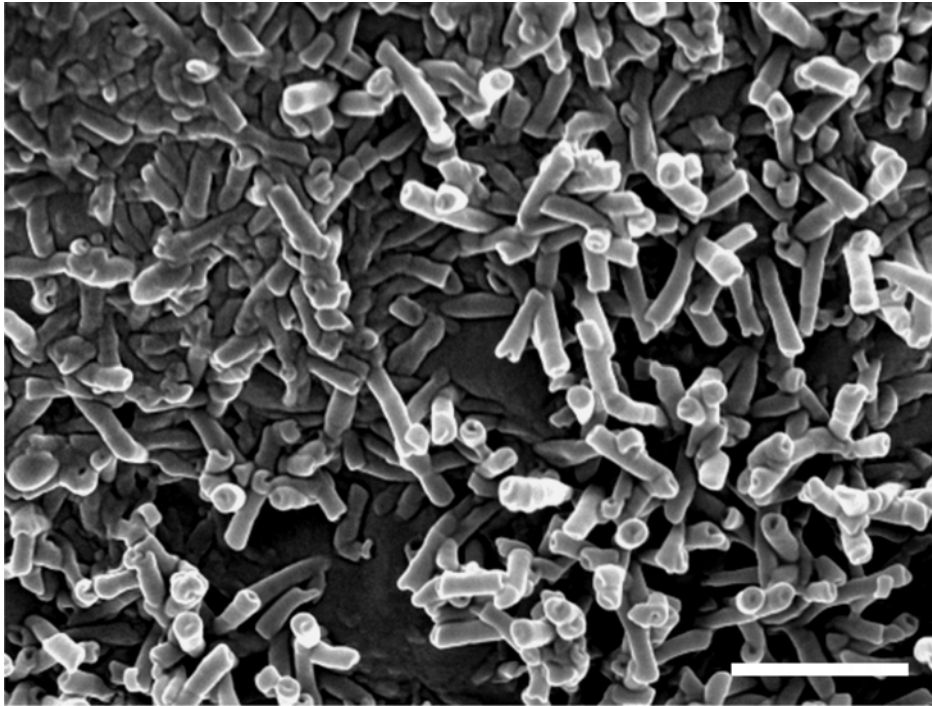


Abbildung 5.6: Details der sichtbaren Veränderungen an den Wachsstrukturen durch Applikation von Tensidtropfen auf einem Blatt von *Tropaeolum majus* L. (linke Seite), Skala: 1  $\mu\text{m}$

Abbildung 5.7 zeigt Veränderungen an rekristallisierten Wachsen (Wachsbedeckung =  $39,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), die durch eine ebenfalls 30 s lange Applikation eines  $40 \mu\text{l}$  Tensidtropfens ( $1 \text{ g}/\text{l}$ ) entstanden sind. Die Unterschiede zu den vorherigen Änderungen der nativen Wachsstrukturen sind hier deutlicher erkennbar. Die Anzahl der aufgerichteten Nonacosanolröhrchen ist im Vergleich zu einer intakten Oberfläche verringert (siehe z.B. Abbildung 4.18 oder 4.28). Ihre terminalen Öffnungen sind nicht mehr sichtbar, der Zwischenraum ist durch eine Schicht aus Tensiden aufgefüllt und somit viel homogener, als bei den intakten Proben ausgebildet.

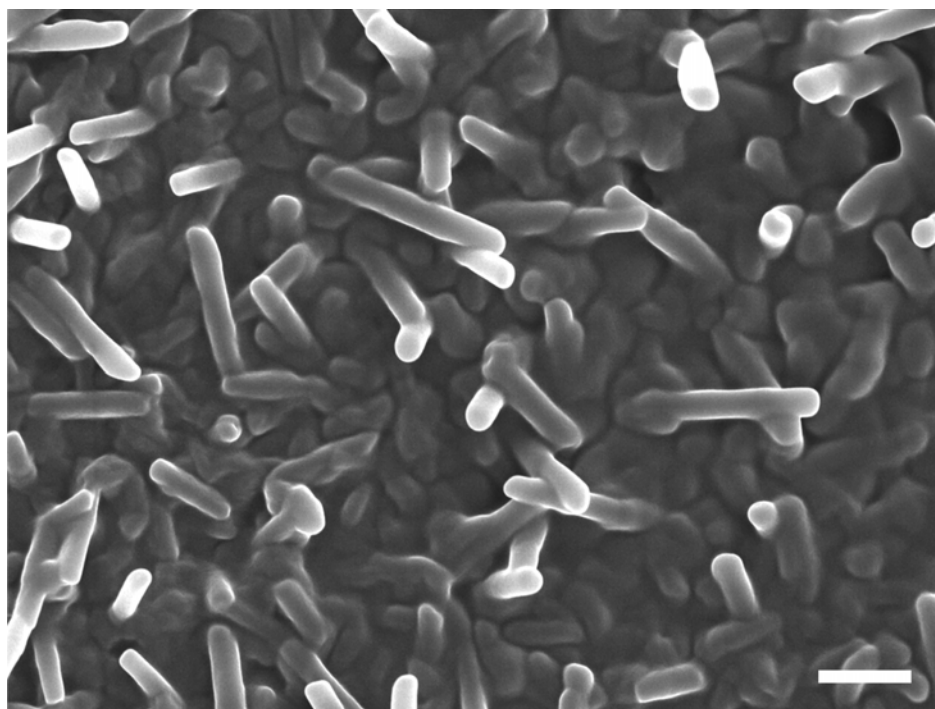


Abbildung 5.7: Rekristallisierte Wachsröhrchen, welche 30 s lang in Kontakt mit einem  $40\ \mu\text{l}$  Tensidtropfen ( $1\ \text{g/l}$ ) gekommen sind (Wachsbedeckung =  $39,8\ \mu\text{g/cm}^2$ ); Skala:  $1\ \mu\text{m}$

Trotz der Veränderung der Wachse an beiden Oberflächen sind sie im Bezug auf den Benetzungsgrad und die Superhydrophobie noch größtenteils intakt, d.h., Wassertropfen rollen von der Oberfläche ab. Die wenigen intakten Strukturen/Bereiche reichen zur Erhaltung des Effektes aus. Eine längerfristige Kontaktzeit gegenüber den Tensiden führt auch hier zum Zusammenbruch der Superhydrophobie. Um dies zu beweisen, wurden auf intakten rekristallisierten und nativen Wachsröhrchen  $40\ \mu\text{l}$  große Tensidtropfen ( $1\ \text{g/l}$ ) eingetrocknet. Abbildung 5.8 zeigt den Rand (a), den Bereich zwischen Rand und Mitte (b) und die Mitte der Kontaktfläche (c), das Gesamtbild gleicht einem „Coffee-Drop“, wie in Abbildung 2.8 zu sehen. Abbildung 5.8 (d) zeigt den Rand eines solchen „Coffee-Drop“-Ringes, links sind die unbeschädigten Wachsröhrchen, rechts die abgelagerte und eingetrocknete Tensidmasse zu sehen.

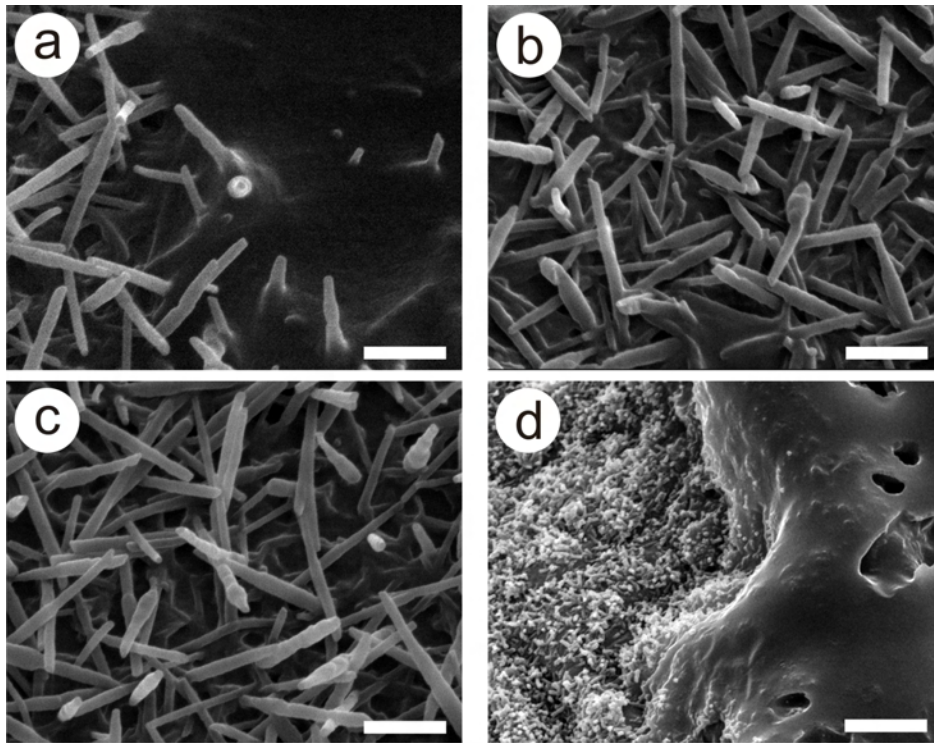


Abbildung 5.8: REM-Bilder der Stellen der rekristallisierten Röhrchen (Wachsbedeckung =  $39,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), die Kontakt mit dem eingetrockneten Tensid hatten. Von außen nach innen: (a) Rand (links: keine Tenside, rechts: Rand des Ringes mit maximaler Tensidkonzentration), (b) zwischen Rand und Zentrum des Tensidringes und (c) Zentrum des eingetrockneten Tropfens mit wenig, bzw. keinem Tensid, (d) zeigt zum Vergleich den Rand des eingetrockneten Tropfens auf nativen Blättern der Kapuzinerkresse (Tensidbedeckung des gebildeten Ringes, vor allem auf (a) und (d) =  $71,885 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ; Skala: (a-c)  $2 \mu\text{m}$ , (d)  $10 \mu\text{m}$ )

Ein Vergleich von rekristallisierten und nativen Röhrchen auf entsprechenden Oberflächen zeigt geringfügige visuelle Abweichungen und Unterschiede im Benetzungsverhalten. Der Hauptgrund liegt in der hierarchisch aufgebauten Doppelstruktur der Pflanze. Während in Abbildung 5.7 die Oberfläche samt Röhrchen gleichmäßig vom Tensid beeinflusst wird, sind auf dem Blatt intakte, tensidfreie Zonen erhalten geblieben (Abbildung 5.5). Beim Benetzungsverhalten gegenüber der  $0,1 \text{ g/l}$  Lösung zeigen die re-

kristallisierten Röhrchen einen höheren, bei der konzentrierten Lösung von 1 g/l ca. den gleichen Abfall des statischen Kontaktwinkels. Durch die Doppelstruktur (hierarchische Strukturierung von Blattoberfläche und Wachsstrukturen) ist womöglich eine stufenweise Spreitung des Tropfen von Papille zu Papille bei niedrigen Konzentrationen an Tensiden vorteilhafter, als eine gleichmäßige Ausbreitung auf den rekristallisierten Röhrchen. Dennoch, aufgrund identischer Wachskemie, Struktur und sehr ähnlichem Benetzungsgrad, sind die rekristallisierten Wachsstrukturen als Modell- und Testflächen für Applikationsexperimente zur Untersuchung von Interaktionen zwischen Wachs und der Testflüssigkeit geeignet. Auch für Experimente zur Klärung des Penetrationsverhaltens von Fungiziden, Pestiziden und Herbiziden durch die Kutikula, mit Wachsen als erster Kontaktzone, sind solche Testflächen geeignet. Ein Austausch der zu bedampfenden Oberflächen von Glas gegen eine (semi-)permeable Membran reicht aus.

## 5.2 Diskussion 5.Kapitel

Nach der Analyse der chemischen Zusammensetzung und des kristallographischen Aufbaus im 3. Kapitel folgte die Übertragung der Wachsstrukturen per Rekristallisation auf nicht biologische Oberflächen. Diese Oberflächen wurden dann, zusammen mit ihren Gegenstücken aus der Natur, mit Tensidlösungen benetzt, um deren Einfluss auf die Benetzung und Stabilität der Wachsstrukturen zu analysieren.

Die Durchführung und anschließende Auswertung der Ergebnisse in Form von Benetzungsdaten und REM-Bildern erwies sich als schwierig. Die Fragestellung, ob die Wachse von Tensiden aufgelöst, lediglich angelöst, oder einfach nur überdeckt und somit maskiert werden, musste zuerst geklärt werden. Im Laufe der Arbeit mit Tensiden wurde die Aussage der Wachsauflösung immer unhaltbarer, entweder waren die Wachsstrukturen in Lage und/oder Form verändert oder bloß durch größere Mengen an Tensid maskiert. Mit Veränderung wurde deshalb ein neutralerer Begriff gewählt, der beide Möglichkeiten widerspiegelt. Diese Terminologie wird ebenfalls in Verbindung

mit dem Tensid Triton X-100 verwendet (z.B. NOGA et al. 1991<sup>83</sup>).

Als erstes soll der Einfluss des Tensids AGNIQUE SBO 10 auf die Benetzung von Glas, getrockneten *Tropaeolum majus*-Blättern mit intakten Wachsröhrchen und rekristallisierten Wachsröhrchen der Kapuzinerkresse diskutiert werden. Eine darauffolgende Gegenüberstellung der Daten mit den REM-Bildern zeigt mögliche Gründe für die unterschiedlichen statischen Kontaktwinkel und somit für die unterschiedlichen Benetzungsgrade auf<sup>3</sup>.

Abbildung 5.1 zeigt eine graphische Auftragung der Änderung der statischen Kontaktwinkel auf Glas in einem Zeitintervall von 2 Minuten. Auf dem hier verwendeten Objektträgerglas verlaufen die Kurven wie erwartet. Mit steigender Tensidkonzentration ist die Abnahme des Kontaktwinkel 5 s nach der Applikation und mit zunehmender Dauer deutlich erkennbar. Tensidfreies Wasser zeigt hingegen nur minimale Veränderungen der statischen Kontaktwinkel auf. Diese liegen im Toleranzbereich der Messungenauigkeit. Einen möglichen Einfluss des Tensids auf die Verdunstungsrate des Lösungsmittels Wasser und damit auf den Kontaktwinkel kann aufgrund der Spreitung des Tropfens und der geringen Abweichung zur Verdunstungsrate reinen Wassers mit dem verwendeten Gerät nicht ermittelt werden (Einfluss von Tensiden auf Verdunstungsrate siehe XU et al. 2010<sup>117</sup>).

Die statischen Kontaktwinkel der Tensidlösungen auf getrockneten Kapuzinerkresseblättern und auf rekristallisierten Röhrchen weisen eine deutliche Diskrepanz zum erwartenden Ergebnis auf.

---

<sup>3</sup>Die Verwendung gleicher Tropfengrößen und zwei Tensidkonzentrationen erleichterte die Berechnung zur enthaltenen und/oder abgeschiedenen Tensidmenge im Tropfen bzw. auf der Oberfläche. Die Tensidmenge in den 5  $\mu$ l Tropfen beträgt 0,5 (0,1 g/l) bzw. 5  $\mu$ g (1 g/l), die in den 40  $\mu$ l Tropfen entsprechend 4 (0,1 g/l) bzw. 40  $\mu$ g (1 g/l). Die Berechnung der Kontaktfläche wurde durch Vermessung des sichtbaren Tensids, welches an der Oberfläche haften blieb, bzw. eingetrocknet ist, ermöglicht. Die sichtbaren „Coffee-Drop“-Ringe wurden, trotz eines Konzentrationsgradienten, in erster Näherung als Ringe konstanter Wachsbedeckung angesehen. Aus dieser Näherung und der verwendeten Tensidmenge konnte ein Tensidbedeckungsgrad errechnet werden (alle Daten siehe Tabelle 5.1).

Die künstliche Oberfläche zeigt gegenüber der nativen schlechtere Benetzungseigenschaften bei beiden Tensidkonzentrationen auf; das Fehlen der Doppelstruktur sollte einen umgekehrten Effekt haben, d.h., bei gleicher Wachskemie und -struktur ist die Oberflächenrauigkeit der entscheidende Faktor. Das beobachtete und gemessene Verhalten der Tropfenspreitung ist im Fall der rekristallisierten Röhrchen bei gegebenem Zeitintervall sogar konzentrationsunabhängig. Einen ähnlich interessanten Effekt zeigten Röhrchen nach wenigen Stunden Rekristallisierung bei 50°C. Dort wurden Kontaktwinkel von über 140° gemessen, jedoch ist keiner der applizierten Wassertropfen, auch bei einer Kippung von 90° bzw. sogar 180° von der Oberfläche abgerollt bzw. abgefallen (NIEMIETZ et al. 2009<sup>81</sup>). Für die Erklärung dieses Zustands sind einfache Benetzungsstadien wie nach WENZEL<sup>114</sup> oder CASSIE-BAXTER<sup>20</sup> nicht ausreichend. Weitere Modelle, wie das „Pilz-Stadium“ (mushroom), beschreiben eine Mischung aus Wenzel und Cassie-Baxter-Benetzungsstadien, im Zentrum des aufliegenden Tropfens Wenzel-Zustand, am Rand Cassie-Baxter-Stadium, (ISHINO et al. 2008<sup>43</sup>) oder der „petal-effect“, bei dem trotz hoher Oberflächenrauigkeit und hoher Kontaktwinkel ein Wassertropfen nicht abrollt (FENG et al. 2008<sup>29</sup>), sind treffender und realitätsnaher. Eine umfassende Zusammenstellung gibt WANG et al. (2007<sup>111</sup>). Zusätzlich ist der Faktor der (Micro-) Rauigkeit ein wichtiger Punkt, der beachtet werden sollte. NOSOVSKY & BHUSHAN legten (2007 a - d<sup>85,86,87,88</sup>) sowohl theoretische Berechnungen und Theorien als auch experimentelle Daten zu diesem Thema vor. Dabei spielen vor allem Faktoren wie der Abstand der herausragenden Strukturen zueinander und somit deren Dichte als auch deren Höhe eine wichtige Rolle. Ein weiterer Punkt, der beachtet werden muss, bezieht sich auf den applizierten Tropfen selbst. Neben der Konzentration am Tensid sind das Tropfenvolumen und die Applikationsart von zentraler Bedeutung. Ein aus größerer Höhe auf die Oberfläche applizierter Tropfen dringt aufgrund seiner kinetischen Energie tiefer zwischen die Wachsstrukturen ein (z.B. Regen) und verfälscht, sofern eine solche Applikation nicht erwünscht ist, das Ergebnis. Die Tropfengröße beeinflusst die Tensidkonzentration auf der Tropfenoberfläche und damit seine Oberflächenspannung. Wegen der Tatsache, dass kleine Tropfen (z.B. hier

von  $5 \mu\text{l}$ ) eine höhere Verdunstungsrate haben, wurde die Messzeit soweit wie möglich reduziert. Die Tropfenvolumina wurden dennoch zwecks besserer Vergleichbarkeit als konstant angesehen. Damit sollte die zustandekommende Diskrepanz der statischen Kontaktwinkel zwischen den nativen und rekristallisierten Wachsen hauptsächlich in der Tatsache der vorhandenen bzw. fehlenden hierarchischen Doppelstruktur liegen. Mögliche Trocknungsartefakte der Blätter, welche zuvor auf einen Probenhalter mit doppelseitigem Klebeband befestigt wurden, können zu Deformationen, wie z.B. Einrollen, führen. Auch das Zusammenfallen der konvex gewölbten Zellen, vor allem an den Spitzen, und gleichzeitige Schrumpfung und damit Verbreiterung des Abstands dieser Zellen voneinander erhöht die Kontaktfläche zum Tropfen. Somit spreiten Tropfen höherer Tensidkonzentration und damit niedriger Oberflächenspannung gegenüber Tropfen niedriger Tensidkonzentration stärker auf diesen nativen, mit Wachskristallen bedeckten Oberflächen. In den Experimenten konnte zudem nur eine Konzentrationsabhängigkeit der Spreitung zwischen beiden Oberflächen bei niedrigen Konzentrationen festgestellt werden (Vergleich Abbildung 5.2 mit 5.3, die  $0,1 \text{ g/l}$  Lösung spreitet auf nativen Oberflächen schlechter als auf rekristallisierten). Weiterführende Experimente wurden auf eingetrockneten Tensidtropfen auf rekristallisierten Röhrchen durchgeführt. Dabei bildeten sich auf den Oberflächen Konzentrationsgradienten in Form von „Coffee-Drops“ aus. Zwecks besserer Vergleichbarkeit mit vorherigen Messungen wurden auch hier  $5 \mu\text{l}$  Tropfen appliziert, was allerdings durch die Tropfengröße dazu führte, dass eine unsymmetrische Benetzung auf dem intakten, d.h. tensidfreien Zentrum (superhydrophob) und auf dem eingetrockneten Tensidring (hydrophil) eintrat. Deshalb zeigen alle gemessenen statischen Kontaktwinkel und Hysteresen in Tabelle 5.2 kaum größere Abweichungen voneinander auf.

Als Zwischenfazit darf man sagen, dass die technischen, mit Wachs bedampften Oberflächen ihren nativen Gegenstücken im Benetzungsverhalten sehr ähneln. Als Gründe für die messbaren Unterschiede sind Trocknungsartefakte und vor allem die Doppelstruktur der Pflanze zu nennen. Weiterführende Experimente auf bedampften Repliken von Pflanzen würden diese Struktureigenschaft exakt wiedergeben können und



zu ähnlicheren Benetzungsergebnissen zwischen Replikat und Original führen (Replikationstechnik siehe KOCH et al. 2008<sup>62</sup> und SCHULTE et al. 2009<sup>102</sup>). Mit den rekristallisierten Strukturen auf nicht biologischen Oberflächen lassen sich die gleichen chemischen Wechselwirkungen (z.B. Maskierung der Wachse durch Tenside, Penetration von Wirkstoffen wie z.B. Fungiziden durch die Wachse) und Benetzungsverhalten zwecks optimaler Spreitung und damit bestmöglicher Wirkstoffverteilung wie auf der Pflanze testen. Die Nutzung der eben erwähnten Replika von Pflanzenoberflächen in Verbindung mit rekristallisierten Wachsen wäre ebenfalls für Langzeitexperimente geeignet, da diese Materialien keiner biologischen Zersetzung unterliegen.

Unterschiede in der Oberflächenbeschaffung, welche ebenfalls auf den hierarchischen Aufbau zurückzuführen sind, lassen sich durch die Elektronenmikroskopie feststellen. Eine Gegenüberstellung der Abbildungen 5.5 und 5.6 mit Abbildung 5.7 zeigt gleiches Verhalten der Wachse beim Kontakt mit dem Tensid, aber eine Verschiedenheit im Bezug auf die Kontaktfläche. Die native Oberfläche minimiert den Kontakt durch ihre Papillen, so dass ihre Zwischenräume nicht kontaminiert werden können und sie somit wiederum als Referenz zu den veränderten Röhrchen dienen. Dabei lässt sich eine komplette Kippung der Röhrchen beobachten. Ein bildlicher Vergleich mit einem gerodeten Wald kommt dem am nächsten. Trotz einer Auffüllung der Zwischenräume mit Tensiden sind ihre Struktur und Form deutlich sichtbar. Die Annahme, dass es sich um Tenside handeln muss, beruht auf der Tatsache der erhaltenen Form der Röhrchen, aufgelöste Röhrchen hätten keine sichtbare Form mehr. Dieser Effekt, dass sich Wachsstrukturen durch Tenside neigen oder ihre Ausrichtung ändern und dann geringfügig (Bedeckung in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration) überdeckt werden, wurde auch von Oliver Hagedorn im Rahmen seiner Diplomarbeit<sup>34</sup> beobachtet. Seine Experimente wurden ebenfalls mit SBO 10 als Tensid bei einer Konzentration von 1 g/l durchgeführt. Als Versuchsobjekte dienten allerdings aufgedampfte und 7 Tage lang bei 50°C rekristallisierte Schuppen auf einem Replikat der nativen Pflanzenoberfläche von *Calathea zebrina* (Korbmarante, Marantaceae, Akzessionsnummer: xx-0-BONN-1201) aus den „Botanische Gärten der Universität Bonn“. Die Ergebnisse

einer Kontaktzeit von 20, 120, 180 und 240 s geben die Abbildungen 5.9 (a) bis (d) wieder. Auch hier wurden verschiedene Papillen untersucht, da das notwendige Sputtern vor dem Mikroskopieren nachfolgende Experimente verfälschen würde.

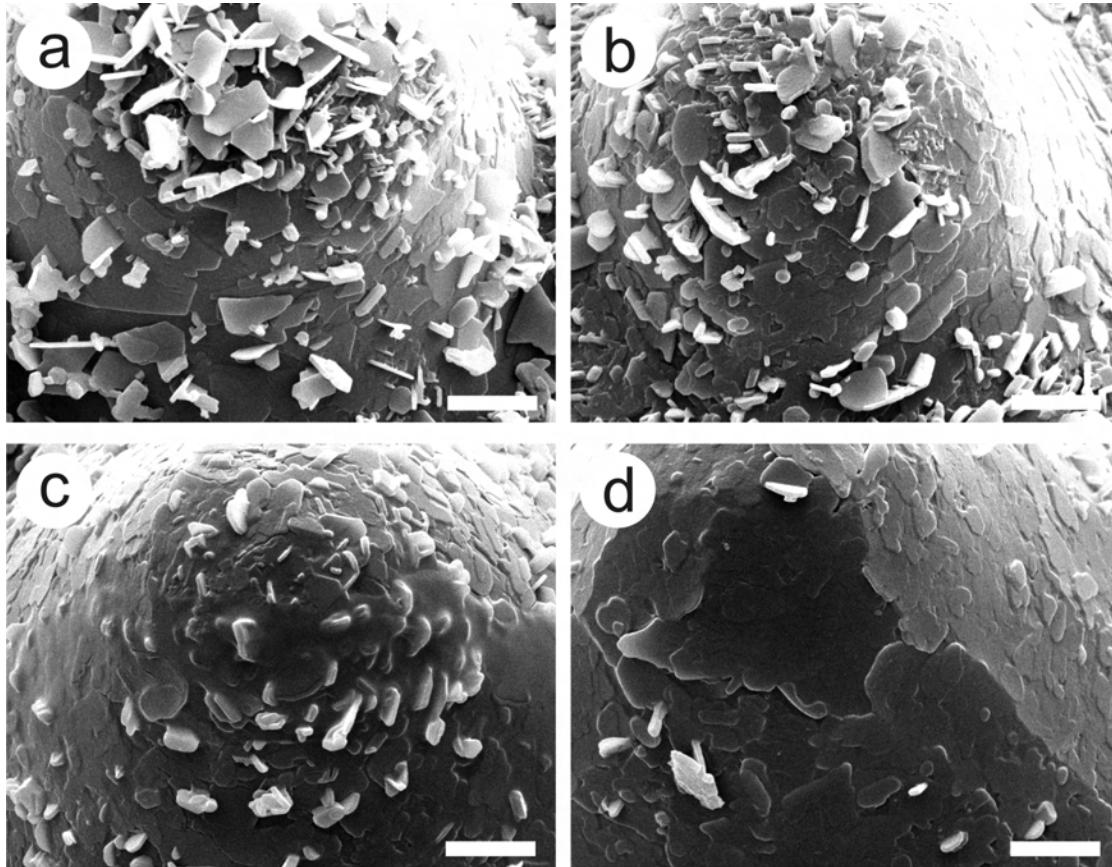


Abbildung 5.9: Wirkung einer 1 g/l SBO 10 Tensidlösung auf die Octacosanolsschuppen der Replik von *Calathea zebrina* nach einer Kontaktzeit von 20 (a), 120 (b), 180 (c) und 240 s (d); Skalen: 5  $\mu\text{m}$ , REM-Bilder von Oliver Hagedorn

Die Aufdampfung von 4 mg Octacosanol bei 4 cm Abstand entspricht einer Wachssbedeckung von 25,13  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Diese Bedeckungsdichte wird allerdings aufgrund der unebenen Oberfläche nur auf den Spitzen erreicht, da die Papillenflanken keine senkrecht zur Bedampfungsquelle ausgerichteten Seiten vorweisen können. Dennoch ist an diesen Stellen, wie an den Spitzen, das Umklappen der Schuppen in eine dachziegelartige Ausrichtung und partielle Auflösung der Schuppen durch Abnahme ihrer Dicke

erkennbar. Längere Kontaktzeit mit dem Tensid verstärkt diesen Effekt (siehe Abbildung 5.9 (a) bis (d)). Die mögliche Auflösung einiger Wachsbereiche durch Tenside kann auch aufgrund der Wachs- und Tensidchemie nicht ausgeschlossen werden. Tenside, als amphiphile Moleküle mit hoher Ähnlichkeit zu den Wachsmolekülen, wären in der Lage, mit den Wachskristallen zu wechselwirken und sie somit durch Austausch oder Anlagerung zu verändern (beim Tensid Triton X-100 siehe z.B. TAMURA et al. 2001<sup>107</sup>).

Neben dem Effekt des Umfallens von Wachskristallen wurde bei diesen Experimenten, wie schon weiter oben erwähnt, ein „Coffee-Drop“-Effect beobachtet. Wenn ein Tensidtropfen auf der Wachsoberfläche eintrocknet, bleibt das Tensid in dieser Form zurück. Abbildungen 5.8 (a) bis (c) zeigen Details der Tensidbedeckung auf einer mit rekristallisierten, wachsröhrchenbedeckten Oberfläche mit einer Wachsbedeckung von  $39,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , (d) zeigt den Effekt auf einer nativen Kapuzinerkresseoberfläche. Ein Vergleich mit den errechneten applizierten Tensidmengen ( $4 \mu\text{g}$  bzw.  $40 \mu\text{g}$ ) zeigt ein Verhältnis zur Wachsmasse von ca. 1:5 ( $0,1 \text{ g/l} = 8,582 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) bzw. sogar 9:5 ( $1 \text{ g/l} = 71,885 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ )(siehe Tabelle 5.1). Die REM-Bilder zeigen die höhere Konzentration, welche besonders stark auf den Abbildungen (a) und (d) sichtbar ist. Dabei zeigen sich Unterschiede; während der Randbereich nahezu komplett mit Tensid bedeckt ist (Abbildung (a), rechte Bildhälfte), ist diese Maskierung bei einer Entfernung von  $\frac{1}{2}r = \frac{1}{4}d$  zur Tropfenmitte fast nicht mehr erkennbar (b) und das Zentrum des „Coffee-Drops“ ist tensidfrei (c). Diese vorher beschriebene Neigung der Wachsstrukturen ist der wahrscheinlichste Grund, welcher ein Herausragen der Röhrchen, die höher als die Tensidschicht sind, verhindert. Unter der großen Tensidmasse sind einzelne flachliegende Wachsröhrchen erkennbar, ein vollständiges Auflösen, welches bis dato in dieser Arbeit nicht beobachtet wurde, kann weiterhin ausgeschlossen werden. Die große Tensidmasse deckt nur ab und maskiert somit die Strukturen. Dies hat zur Folge, dass, selbst wenn Regen das eingetrocknete Tensid wieder abwäscht und die Strukturen erhalten bleiben, diese flach auf der Oberfläche liegen und somit ihre Funktionen, wie in Kapitel 1.4 geschildert, nicht mehr vollständig erfüllen können. In Abbildung 5.8 (d)

(rechte Bildhälfte) sind die Tensidmassen deutlich sichtbar, sie überdecken nicht nur die Wachse, sondern füllen sogar die Papillenzwischenräume auf. Die hier verwendeten Tensidmengen sind wohl im Vergleich zur Pflanzenschutzmittelapplikation höher (Korrespondenz mit Dr. Mainx, Cognis GmbH), dennoch wird die negative Wirkung des Tensids auf die Wachsstrukturen und damit auf deren Funktion deutlich.

Das Problem der Maskierung der Wachse als dynamischer Vorgang konnte mittels der REM nicht dokumentiert werden. Die Anwendung der Lichtmikroskopie als Methode sollte dieses Problem lösen. Die mit der Cryo-Methode abgehobenen Röhrchen der Kapuzinerkresse wurden unter dem Mikroskop einer 1 g/l konzentrierten Lösung ausgesetzt. Die mikroskopische Beobachtung erwies sich jedoch in dreifacher Hinsicht als problematisch. Zum einen werden Proben standardmäßig vor dem Mikroskopieren mit Wasser benetzt und mit einem Deckgläschen bedeckt. In unserem Fall verhinderten die intakten Wachsröhrchen mit ihrer superhydrophoben Oberfläche eine geschlossene Benetzung und es kam zu Luftblaseneinschlüssen (Abbildung 5.4 (a), Kreis). Der nachfolgende Austausch des Wassers gegen die Tensidlösung erzeugte zum zweiten eine stärkere Strömung, die erst nach 60 s die ersten Bilder möglich machte. Und das dritte Problem zeigt sich in der Zweidimensionalität der Aufnahmen selbst. Das verwendete Lichtmikroskop besitzt nur die Option einer Fokussierung auf eine Ebene. In einigen Fällen veränderte das Entweichen der Luftblasen und die schwankende Wassermenge unter dem Deckglas diese Fokusebene, was eine Nachfokussierung erforderlich machte. Alle drei Effekte tragen dazu bei, dass keine klaren Aussagen über das Verschwinden von Wachsröhrchen aus der Beobachtungsebene gemacht werden können. Die Nutzung der Lichtmikroskopie erbrachte keine neuen, zusätzlichen Erkenntnisse.

# Zusammenfassung

Die Ziele dieser Arbeit waren die Gewinnung neuer oder die Bestätigung bzw. Widerlegung bekannter Ergebnisse im Forschungsbereich epikutikularer Wachsstrukturen. In drei aufeinander aufbauenden und verknüpften Schwerpunkten wurde dabei der Fokus auf die Chemie, die Rekristallisation unter Einfluss verschiedener Parameter und die Stabilität der Wachsstrukturen gegenüber Tensiden gelegt.

Die Fragestellung nach der chemischen Zusammensetzung der ausgewählten Wachse mit dem Schwerpunkt Wachsschuppen und Wachsröhrchen wurde durch die GC/MS-Methode beantwortet. Dabei wurde neben der Gesamtwachsextraktion mittels Chloroform durch die Wahl alternativer aber selektiver Wachsgewinnungsmethoden, wie z.B. der Cryomethode, nach Blattober- und Unterseite unterschieden. Es zeigte sich, dass epikutikulare Wachse aus linearen, aliphatischen Molekülen mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen bestehen. Die Tabelle 3.4 in Kapitel 3 zeigt eine detaillierte Übersicht. Die große Vielfalt der Systeme wird daran deutlich, dass einerseits Wachse aus unterschiedlichen Mischungsverhältnissen *derselben* Wachsmoleküle, wie sie z.B. von der Blattober- bzw. Blattunterseite von Zitronenblättern gewonnen werden, zu unterschiedlichen Strukturen führen, und dass andererseits selbst komplexe Wachsstrukturen aus nur *einer* (Wachsschuppen: Ketone oder prim. Alkohole) oder *zwei* unterschiedlichen Komponenten bestehen können (Wachsröhrchen: Nonacosan-10-ol und ein entsprechendes Diol). Diese Wachsarchitekturen sitzen i.Allg. auf einem basalen Wachsfilm. Der Versuch der vollständigen Trennung dieser Wachsstrukturen vom basalen Wachsfilm gelang nicht, lediglich Tendenzen über die Verteilung bestimmter Mole-

külklassen auf die dreidimensionalen Strukturen und den Film konnten erkannt werden.

Neben der Chemie wurde auch die Fragestellung nach der Kristallinität der Wachse mittels Röntgenbeugungsexperimenten beantwortet. Es konnte bestätigt werden, dass epikutikulare Wachse, seien es Filme, Röhrchen oder Schuppen, kristallin sind. Thermische Experimente mittels DSC (Differential Scanning Calorimetry) konnten keine (eindeutigen) metastabilen Zwischenphasen entdecken. Lediglich der Nachweis einer schrittweisen Schmelze oder Erstarrung der Wachse konnte erbracht werden.

Nach der Klärung des chemischen Aufbaus der Wachse wurden Rekristallisationsexperimente mit Röhrchen- (*Tropaeolum majus* L.-Wachs) und Schuppenwachsen (Octacosanol und Hentriacontan-16-on als Einzelkomponenten und *Allium porrum* L.-Wachs als Wachsgemisch) erfolgreich durchgeführt. Die gewachsenen Strukturen wurden mit Hilfe von Rasterelektronenmikroskopie (REM) und Atom-Kraft-Mikroskopie (AFM) sichtbar gemacht. Die Variation der Parameter Temperatur, Lösungsmittel und Substrat während der Rekristallisation von *Schuppen* zeigte unterschiedliche Auswirkungen. Mit Temperaturen von 50°C statt 25°C wurden Geschwindigkeit und Schuppengröße positiv beeinflusst. Rekristallisation in Gegenwart von Lösungsmitteldämpfen wirkte sich negativ auf die Form aus. Octacosanolschuppen wuchsen ineinander und im Fall von Hentriacontan-16-on in Verbindung mit Chloroformdampf bildeten sich homogene Wachsfilme aus. Bei Rekristallisation geringer Wachsmengen Octacosanol (Konzentration: 15 mg/ml Chloroform) auf mit Oxid bedecktem Silizium konnte durch die Bildung von *flachliegenden* Rauten und auf HOPG durch die hexagonale Anordnung der Schuppen mittels AFM ein Substrateinfluss nachgewiesen werden. Höhere Wachsmengen überdecken diesen Effekt, indem zuerst eine Wachsunterlage gebildet wird, auf der Wachsschuppen *senkrecht* zur Ebene aufwachsen.

Neben der mikroskopischen Auswertung der Strukturen wurden auch Benetzungsexperimente mit Wasser auf den Oberflächen durchgeführt. Es wurde dabei gezeigt, dass die generierten Wachsoberflächen trotz fehlender Doppelstrukturierung der Pflanzeno-

berflächen ähnliche hydrophobe Benetzungseigenschaften besitzen wie Lotus (*Nelumbo nucifera*).

Auch Experimente zur Optimierung der Rekristallisation von Wachsröhrchen aus *Tropaeolum majus*-Wachs verliefen erfolgreich. Die Selbstorganisation wurde ebenfalls durch die Parameter Temperatur, Lösungsmittel und Substrat beeinflusst, auch wenn diese zum Teil eine andere Wirkung auf den Prozess hatten als zuvor bei Schuppen. Der Einfluss von Wasser- und Ethanol Dampf zeigte unterschiedliche Ergebnisse. Während Wasser die Rekristallisation der Röhrchen nur gering beeinflusste, wirkte Ethanol nicht nur stark beschleunigend auf die Selbstorganisation, sondern ermöglichte sie schon bei Temperaturen unterhalb von 40°C. Experimente, bei denen nur der Faktor Temperatur variiert wurde, zeigten, dass mindestens 40°C nötig waren, um die notwendige Energie zur Diffusion der Moleküle aufzubringen. Aus der Anzahl der Röhrchen, die nach 1, 3 und 7 Tagen bei Temperaturen von 40, 45 und 50°C entstanden waren, konnten diese Energien zu 400 bis 440  $\text{kJ/mol}$  bestimmt werden. Wie bei den Schuppen wurden auch hier zusätzlich Benetzungsexperimente durchgeführt. Die erzeugten Wachsoberflächen wiesen die gleichen superhydrophoben Eigenschaften der Pflanzenoberflächen auf.

Des Weiteren wurden Experimente zur Rekristallisation von Röhrchen aus einem Gemisch von *Tropaeolum*-(Röhrchen)Wachs und Octacosanol (Schuppenwachs) durchgeführt. Dabei wurden Wachsgemische beider Strukturen in bestimmten Verhältnissen zur Rekristallisation gebracht. Aus der dominierenden Masse entwickelten sich die entsprechenden Strukturen, welche jedoch zum Teil vom anderen Wachs beeinflusst wurden. Bestes Beispiel hierfür sind die gebogenen Schuppen bei einem Mischungsverhältnis von Octacosanol zum Röhrchenwachs von 3:1 (Abbildung 4.33).

Die Ergebnisse der Experimente an mittels Cryomethode abgehobenen Wachsfilmen aus primären Alkoholen und Alkanen zeigten unter dem AFM nicht nur einen Schichtaufbau mit Lagen konstanter Dicke von zwei Moleküllängen, sondern auch die Schwierigkeiten bei der Rekristallisation dieser Wachsstruktur sowohl auf HOPG als auch auf Glas, denn es kam zu einer Entmischung beider Stoffklassen (Alkane und prim. Alkohole), die zu einer Vernetzung von Schuppen führte. Auf dem Substrat HOPG ent-

standen stellenweise nicht miteinander verbundene Wachsschuppen, deren hexagonale Anordnung von der Symmetrie des Substrates bestimmt wurde. Dabei konnte keine Filmbildung beobachtet werden.

Den dritten Schwerpunkt dieser Arbeit bildeten die Experimente zur Stabilität der Wachsstrukturen gegenüber Tensiden. Die Hauptversuchsreihe bestand aus Applikationsexperimenten mit einerseits zwei verschiedenen Konzentrationen des Tensids - AGNIQUE SBO 10 und andererseits Wasser als Referenz, welche auf unbehandeltem Glas sowie nativen und rekristallisierten Oberflächen mit Wachsröhrchen durchgeführt wurden. An diesen Proben wurden insbesondere Kontaktwinkelmessungen durchgeführt. Die gemessenen Werte auf Glas zeigten innerhalb des Messzeitraums von 120 s kaum Änderungen des Kontaktwinkels von Wasser, beide Tensidkonzentrationen wiesen jedoch mit zunehmender Konzentration und Zeit ansteigendes Benetzungsverhalten auf. Diese Beobachtungen trafen auch auf die nativen Oberflächen zu. Hierbei waren die gemessenen Kontaktwinkel deutlich höher als auf Glas, jedoch nicht so hoch wie die von reinem Wasser ( $> 160^\circ$ ). Die Kontaktwinkel auf den rekristallisierten Oberflächen waren dagegen um bis zu  $15^\circ$  höher als die auf den nativen Strukturen, und zwar für beide Tensidkonzentrationen gleichermaßen, d.h., konzentrationsunabhängig. Zusätzlich aufgenommene REM-Bilder der Oberflächen nach einer Tensidapplikation zeigten zwei Auffälligkeiten. Die Wachsröhrchen wurden nicht, wie zuvor angenommen, aufgelöst, sondern vom Tensid maskiert. Der andere Punkt war ein Umkippen der Wachsröhrchen und Schuppen, was die Annahme einer vorhandenen Sollbruchstelle stützt. Durch eingeschlossene Luftbläschen und die eingeschränkte Möglichkeit, mehrere Ebenen unter dem verwendeten Mikroskop gleichzeitig zu beobachten, erbrachte die Lichtmikroskopie hier allerdings keine neuen Ergebnisse.

Ein genereller wichtiger Befund der Untersuchungen ist, dass die generierten Oberflächen, seien es Schuppen- oder Röhrchenstrukturen oder auch die Koexistenz beider Formen, gleiche Benetzungseigenschaften wie natürliche Blattoberflächen aufweisen. Damit konnte erfolgreich gezeigt werden, dass die Entwicklung von Testflächen für



weitere Applikationsexperimente („Lab on Chip“) möglich ist. In der vorliegenden Arbeit haben sie sich zur Klärung der Stabilität der Wachsstrukturen gegenüber Tensiden bewährt. Während die Änderung der Benetzbarkeit durch die Tenside erwartet werden konnte, war es überraschend, dass die Tenside die Wachsstrukturen nur maskierten, aufrechte Strukturen „umkippten“, aber nicht auflösten.

Weiterführende Experimente sollten sich mit der Selbstorganisation auf molekularer Ebene und der eindeutigen Klärung der strukturbestimmenden Komponenten beschäftigen. Die Fragestellung nach der Molekülart und wie sie im Geflecht der zahlreichen anderen, nicht für die Struktur verantwortlichen, Moleküle ihre passende Position finden und die Struktur und damit letztendlich die Benetzungseigenschaften der technischen oder natürlichen Oberfläche bestimmen, sollte dabei im Vordergrund stehen. Die Herstellung dieser rekristallisierten Oberflächen ist mit Sicherheit auch aus Wachsen anderer Pflanzen möglich. Somit sind weiterführende Applikationsexperimente auf diesen „simulierten“ Pflanzenoberflächen zur Optimierung der eingesetzten Tenside oder anderer Chemikalien unter Laborbedingungen möglich.



# Literaturverzeichnis

- [1] Eintrag zu Kohlenstoffdioxid, LINDE-Datenbank, abgerufen am 18.10.2010, [www.linde-gase.de/produkte/reingase/reingase/kohlendioxid\\_fluessig.html](http://www.linde-gase.de/produkte/reingase/reingase/kohlendioxid_fluessig.html).
- [2] Eintrag zu Stickstoff, LINDE-Datenbank, abgerufen am 18.10.2010, [www.linde-gase.de/produkte/reingase/reingase/stickstoff\\_5.0.html](http://www.linde-gase.de/produkte/reingase/reingase/stickstoff_5.0.html).
- [3] BAKER, E.A.: *Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes*. In: Cutler, D.F., Alvin, K.L. & Price, C.E. (Eds.): *The Plant Cuticle*, S. 139-166. Academic Press, London, 1982.
- [4] BAKER, E.A., BUKOVAC, M.J. & HUNT, G.M.: *Composition of tomato fruit cuticle as related to fruit growth and development*. In: Cutler, D.F., Alvin, K.L. & Price, C.E. (Eds.): *The Plant Cuticle*, S. 33-44. Academic Press, London, 1982.
- [5] BARGEL, H. & NEINHUIS, C.: *Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit growth and ripening as related to the biomechanical properties of fruit skin and isolated cuticle*. J. Exp. Bot., 56:1049–1060, 2005.
- [6] BARGEL, H., BARTHLOTT, W., KOCH, K., SCHREIBER, L. & NEINHUIS, C.: *Plant cuticles: multifunctional interfaces between plant and environment*. In: A. Hemsley & I. Poole (Eds.): *Evolution of Plant Physiology*, S. 171-194. Academic Press, London, 2003.

- [7] BARGEL, H., KOCH, K., CERMAN, Z. & NEINHUIS, C.: *Structure-function relationship of the plant cuticle and cuticular waxes - a smart material?* Functional Plant Biology Ev Rev, 3:893–910, 2006.
- [8] BARNES, J.D. & CARDOSO-VILHENA, J.: *Interactions between electromagnetic radiation and the plant cuticle*. In: Kerstiens, G. (Ed.): Plant Cuticles, an integrated functional approach, S. 157-170. BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford, 1996.
- [9] BARTHLOTT, W., NEINHUIS, C., CUTLER, D., DITSCH, F., MEUSEL, I., THEISEN, I. & WILHELMI, H.: *Classification and terminology of plant epicuticular waxes*. J. Linnean Soc., 126:237–260, 1998.
- [10] BARTHLOTT, W., NEINHUIS, C., JETTER, R., BOURAUDEL, T. & RIEDERER, M.: *Waterlily, poppy, or sycamore: on the systematic position of Nelumbo*. Flora, 191:169–174, 1996.
- [11] BHUSHAN, B. & JUNG, Y.C.: *Wetting study of patterned surfaces for superhydrophobicity*. Ultramicroscopy, 107:1033–1041, 2007.
- [12] BHUSHAN, B., JUNG, Y.C., NIEMIETZ, A. & KOCH, K.: *Lotus-Like Biomimetic Hierarchical Structures Developed by the Self-Assembly of Tubular Plant Waxes*. Langmuir, 25:1659–1666, 2009.
- [13] BHUSHAN, B., KOCH, K. & JUNG, Y.C.: *Nanostructures for superhydrophobicity and low adhesion*. SoftMatter, 4:1799–1804, 2008.
- [14] BIANCHI, G.: *Plant Waxes*. In: Hamilton, R.J. (Ed.): Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions, S. 178, Tab. 5.1. The Oily Press LTD, Dundee, 1995.
- [15] BIANCHI, G.: *Plant Waxes*. In: Hamilton, R.J. (Ed.): Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions, S. 177-222. The Oily Press LTD, Dundee, 1995.

- [16] BIERWERTH, W.: *Tabellenbuch Chemietechnik*. Europa-Lehrmittel, Haan-Gruiten, 6. Auflage, 2007.
- [17] BUKOVAC, M.J. & PETRACEK, P.D.: *Characterizing pesticide and surfactant penetration with isolated plant cuticles*. Pestic. Sci., 37:179–194, 1993.
- [18] BURGHARDT, M. & RIEDERER, M.: *Cuticular transpiration*. In: Riederer, M. & Müller, C. (Eds.): *Biology of the Plant Cuticle*, S. 292–309. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, 2006.
- [19] CAMERON, K.D., TEECE, M.A., & SMART, L.B.: *Increased accumulation of cuticular wax and expression of lipid transfer protein in response to periodic drying events in leaves of tree tobacco*. Plant Physiol., 140:176–183, 2006.
- [20] CASSIE, A.D.B. & BAXTER, S.: *Wettability of porous surfaces*. Trans. Faraday Soc., 40:546–551, 1944.
- [21] DE BARY, A.: *Ueber die Wachsoberzüge der Epidermis*. Bot. Zeitschrift, 29:128–129, 145–154, 161–176, 566–571, 273–585, 605–619, 1871.
- [22] DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR FETTWISSENSCHAFT: *DGF-Einheitmethode M-I 1 (75)*, [www.dgfett.de](http://www.dgfett.de).
- [23] DICKE, M.: *Specificity of Herbivore-Induced Plant Defences*. In: Chadwick, D.J. & Goode, J.A. (Eds.): *Insect-Plant Interactions and Induced Plant Defence*, S. 43–59. John Wiley & Sons, Hoboken, 1999.
- [24] DORSET, D.: *The crystal structure of waxes*. Acta Cryst., B51:1012–1028, 1995.
- [25] DORSET, D.: *Development of lamellar structures in natural waxes - An electron diffraction investigation*. J. Phys., D32:1276–1280, 1999.
- [26] ENSIKAT, H.J., BOESE, M., MADER, W., BARTHLOTT, W. & KOCH, K.: *Cristallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies*. Chem. Phys. Lipids, 144:45–59, 2006.

- [27] ENSIKAT, H.J., NEINHUIS, C. & BARTHLOTT, W.: *Direct access to plant epicuticular wax crystals by a new mechanical isolation method*. Int. J. Plant Science, 161(1):143–148, 2000.
- [28] EXTRAND, C.W.: *Model for contact angle and hysteresis on rough and ultraphobic surfaces*. Langmuir, 18:7991–7999, 2002.
- [29] FENG, L., ZHANG, Y., XI, J., ZHU, Y., WANG, N., XIA, F. & JIANG, L.: *Petal effect: A superhydrophobic state with high adhesive force*. Langmuir, 24:4114–4119, 2008.
- [30] FÜRSTNER, R., BARTHLOTT W. NEINHUIS C. & WALZEL P.: *Wetting and self-cleaning properties of artificial superhydrophobic surfaces*. Langmuir, 21:956–961, 2005.
- [31] GORB, E., HAAS, K., HEINRICH, A., ENDERS, S., BARBAKADZE, N. & GORB, S.: *Composite structure of the crystalline wax layer of the slippery zone in the pitchers of the carnivorous plant Nepenthes alata and its effect on the insect attachment*. J. Exp. Biol., 208:4651–4662, 2005.
- [32] GREW, N.: *The Anatomy of Plants, with an idea of a philosophical history of plants*. 1682.
- [33] HAAS, K., BRUNE, T. & RUCKER, E.: *Epicuticular wax crystalloids in rice and sugar cane leaves are reinforced by polymeric aldehydes*. J. Appl. Bot. - Angew. Botanik, 75:178–187, 2001.
- [34] HAGEDORN, O.: *Veränderungen der Benetzungsstadien superhydrophober Oberflächen durch Tensidbehandlung*. Diplomarbeit, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 2011.
- [35] HALLAM, R.J. & JUNIPER, B.E.: *The anatomy of the leaf surface*. In: Preece, T.F. & Dickson, C.H. (Eds.): *The Ecology of Leaf Surface Micro-organisms*, S. 3–37. Academic Press, London, 1971.

- [36] HOLLOWAY, P.J.: *The chemical constitution of plant cutins*. In: Cutler, D.F., Alvin, K.L. & Price, C.E. (Eds.): *The Plant Cuticle*, S. 45-85. Academic Press, London, 1982.
- [37] HOLLOWAY, P.J.: *Plant cuticles: Physiochemical characteristics and biosynthesis*. In: Percy, K.E., Cape, C.N., Jagels, R. & Simpson, C.J. (Eds.): *Air pollutants and the leaf cuticle*, S. 1-13. Springer, Berlin, 1994.
- [38] HOLLOWAY, P.J.: *Structure and histochemistry of plant epicuticular membranes: an overview*. In: Cutler, D.F., Alvin, K.L. & Price, C.E. (Eds.): *The Plant Cuticle*, S. 1-32. Academic Press, London, 1982.
- [39] HOLLOWAY, P.J.: *Surface lipids of plants and animals*. In: Mangold, H.K., Zweig, G. & Sherma, J. (Eds.): *Handbook of Chromatography, Lipids Volume 1*, S. 347-380. CRC Press, Boca Raton, 1984.
- [40] HOLLOWAY, P.J., JEFFREE, C.E. & BAKER, E.A.: *Structural determination of secondary alcohols from plant epicuticular waxes*. *Phytochemistry*, 15:1768–1770, 1976.
- [41] HOLMES, M.G. & KEILLER, D.R.: *Effects of pubescence and waxes on the reflectance of leaves in the ultraviolet and photosynthetic wavebands: a comparison of a range of species*. *Plant Cell Environ.*, 25:85–93, 2002.
- [42] HOMMES, A.: *Untersuchungen zum Adsorptionsverhalten molekularer Filme epikutikularer Wachse auf artifiziellen Oberflächen*. Doktorarbeit, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 2010.
- [43] ISHINO, C. & OKUMURA, K.: *Wetting transitions on textured hydrophilic surfaces*. *Eur. Phys. J. E.*, 25(4):415–424, 2008.
- [44] JEFFREE, C.E.: *The fine structure of the plant cuticle*. In: Riederer, M. & Müller, C. (Eds.): *Biology of the Plant Cuticle*, S. 11-125. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 2006.

- [45] JEFFREE, C.E.: *Structure and ontogeny of plant cuticles*. In: Kerstiens, G. (Ed.): *Plant Cuticles, an integrated functional approach*, S. 33-82. BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford, 1996.
- [46] JEFFREE, C.E., BAKER, E.A. & HOLLOWAY, P.J.: *Ultrastructure and recrystallization of plant epicuticular waxes*. *New Phytol.*, 75:539–549, 1975.
- [47] JETTER, R. & RIEDERER, M.: *Epicuticular crystals of nonacosan-10-ol: in vitro reconstitution and factors influencing crystal habits*. *Planta*, 195:257–270, 1994.
- [48] JETTER, R. & RIEDERER, M.: *In vitro reconstitution of epicuticular wax crystals. Formation of tubular aggregates by alkanediols*. *Botanica Acta*, 108(111-120), 1995.
- [49] JETTER, R. & SCHÄFFER, S.: *Chemical composition of the Prunus laurocerasus leaf surface. Dynamic changes of the epicuticular wax film during leaf development*. *Plant Physiol.*, 126:1725–1737, 2001.
- [50] JETTER, R., KUNST, L. & SAMUELS, A.L.: *Composition of plant cuticular waxes*. In: Riederer, M. & Müller, C. (Eds.): *Biology of the Plant Cuticle*, S. 145-175. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, 2006.
- [51] JETTER, R., SCHÄFFER, S. & RIEDERER, M.: *Leaf cuticular waxes are arranged in chemically and mechanically distinct layers: evidence from Prunus laurocerasus L. plant*. *Cell Environ.*, 23:619–628, 2000.
- [52] KERSTIENS, G.: *Cuticular water permeability and its physiological significance*. *J. Exp. Bot.*, 47:1813–1832, 1996.
- [53] KLUG, D.D.: *Condensed-matter physics: Dense ice in detail*. *Nature*, 420:749–751, 2002.



- [54] KOCH, K.: *Morphogenese epicuticularer Wachskristalle und Transport von Wachskomponenten durch die pflanzliche Cuticula*. Doktorarbeit, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 2001.
- [55] KOCH, K. & ENSIKAT H.J.: *The hydrophobic coatings of plant surfaces: epicuticular wax crystals and their morphologies, crystallinity and molecular self-assembly*. *Micron*, 39:759–772, 2008.
- [56] KOCH, K., BARTHLOTT, W., KOCH, S., HOMMES, A., WANDELT, K., MAMDOUH, W., DE-FEYTER, S. & BROEKMANN, P.: *Structural analysis of wheat wax *Triticum aestivum* c.v. Naturastar L.: from the molecular level to three dimensional crystals*. *Planta*, 223:258–270, 2006.
- [57] KOCH, K., BHUSHAN, B. & BARTHLOTT, W.: *Multifunctional surface structures of plants: An inspiration for biomimetics*. *Prog. Mat. Sci.*, 54:137–178, 2009.
- [58] KOCH, K., DOMMISSE, A. & BARTHLOTT, W.: *Chemistry and crystal growth of plant wax tubules of *Lotus Nelumbo nucifera* and *Nasturtium Tropaeolum majus* leaves on technical substrates*. *Cryst. Growth Des.*, 6:2571–2578, 2006.
- [59] KOCH, K., DOMMISSE, A., NIEMIETZ, A., BARTHLOTT, W. & WANDELT, K.: *Nanostructure of epicuticular plant waxes: Self-assembly of wax tubules*. *Surface Science*, 603:1961–1968, 2009.
- [60] KOCH, K., HARTMANN, K.D., SCHREIBER, L., BARTHLOTT, W. & NEINHUIS, C.: *Influence of air humidity on epicuticular wax chemical composition, morphology and wettability of leaf surfaces*. *Environ. Exp. Bot.*, 56:1–9, 2006.
- [61] KOCH, K., NEINHUIS, C., ENSIKAT, H.J. & BARTHLOTT, W.: *Self assembly of epicuticular waxes on plant surfaces investigated by Atomic Force Microscopy (AFM)*. *J. Exp. Bot.*, 55:711–718, 2004.

- [62] KOCH, K., SCHULTE, A.J., FISCHER, A., GORB, S.N. & BARTHLOTT, W.: *A fast, precise and low-cost replication technique for nano- and high-aspect-ratio structures of biological and artificial surfaces*. Bioinsp. & Biomim, 3:046002, 2008.
- [63] KOLATTUKUDY, P.E.: *Cutin, suberin, and waxes*. In: Stump, P.K. (Ed.): Lipids: structure and function, Vol. 4 von Stump, P.K. & Conn, E.E. (Eds.): The biochemistry of plants: a comprehensive treatise, S. 571-646. Academic Press, New York, 1980.
- [64] KOLATTUKUDY, P.E.: *Plant waxes*. Lipids, 5:259–274, 1970.
- [65] KREGER, D.R.: *An X-ray study of waxy coating from plants*. Recueil des Travaux botaniques Nederlandais, 42:606–736, 1948.
- [66] KUNST, L. & SAMUELS, A.L.: *Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax*. Prog. Lipid Res., 42:51–80, 2003.
- [67] LANDOLD-BÖRNSTEIN: *Zahlenwerte und Funktionen aus Physik Chemie Astronomie Geophysik Technik, Band 4, Bandteil a, 4. Teil, Wärmetechnik*. Springer, Berlin, 1967.
- [68] LANDOLD-BÖRNSTEIN: *Zahlenwerte und Funktionen aus Physik Chemie Astronomie Geophysik Technik, Band II, 5. Teil*. Springer, Berlin, 1969.
- [69] LARSON, K.: *Lipids: Molecular organization, physical functions and technical applications*. The Oily Press, 1994.
- [70] LE POULENNEC, C., COUSTY, J., XIE, Z.X. & MIOSKOWSKI, C.: *Self-organization of physisorbed secondary alcohol molecules on a graphite surface*. Surface Science, 448:93–100, 2000.
- [71] MALKIN, T.: *The molecular structure and polymorphism of fatty acids and their derivatives*. Progr. Chem. Fats, 1:1–17, 1952.

- [72] MARTIN, J.T. & JUNIPER, B.E.: *The Cuticles of Plants*. Edward Arnold Ltd, 1970.
- [73] MAZLIAK, P.: *Chemistry of plant cuticles*. Progress in Phytochemistry, 1:49–111, 1968.
- [74] MEUSEL, I., NEINHUIS C. MARKSTÄDTER C. & BARTHLOTT W.: *Ultrastructure, chemical composition and recrystallization of epicuticular waxes: transversely ridged rodlets*. Can. J. Bot., 77:706–720, 1999.
- [75] MEUSEL, I., NEINHUIS C. MARKSTÄDTER C. & BARTHLOTT W.: *Chemical composition and recrystallization of epicuticular waxes: coiled rodlets and tubules*. Plant Biol., 2:1–9, 2000.
- [76] MITOV, Z. & KUMACHEVA, E.: *Convection-induced patterns in phase-separating polymeric fluids*. Phys. Rev. Lett., 81:3427, 1998.
- [77] MÜLLER, A. & SAVILLE, W.B.: *Further X-ray measurements on long-chain compounds (n-hydrocarbons)*. J. Chem. Soc.,Trans., 127:599–603, 1925.
- [78] NEINHUIS, C. & BARTHLOTT, W.: *Characterization and distribution of water-repellent self-cleaning plant surfaces*. Ann. Bot., 79:667–677, 1997.
- [79] NEINHUIS, C., KOCH, K., & BARTHLOTT, W.: *Movement and regeneration of epicuticular waxes through plant cuticles*. Planta, 213:427–434, 2001.
- [80] NEINHUIS, C., WOLTER, M. & BARTHLOTT, W.: *Epicuticular wax of Brassica oleracea: Changes of microstructure and ability to be contaminated of leaf surfaces after application of Triton X-100*. Zeitschrift Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 99:542–549, 1992.
- [81] NIEMIETZ, A., WANDEL, K., BARTHLOTT, W. & KOCH, K.: *Thermal evaporation of multi-component waxes and thermally activated formation of nanotu-*

- bules for superhydrophobic surfaces. *Progress in Organic Coatings*, 66:221–227, 2009.
- [82] NOGA, G., KNOCHE, M., WOLTER, M. & BARTHLOTT, W.: *Changes in leaf micromorphology induced by surfactants application*. *Angew. Bot.*, 61:521–528, 1987.
- [83] NOGA, G., WOLTER, M., BARTHLOTT, W. & PETRY, W.: *Quantitative evaluation of epicuticular wax alternations as induced by surfactant treatment*. *Angew. Bot.*, 65:239–252, 1991.
- [84] NOMOMURA, M., KOBAYASHI, R., NISHIURA, Y. & SHIMOMURA, M.: *Periodic Precipitation during Droplet Evaporation on a Substrate*. *J. Phys. Soc.*, 72(10):2468–2471, 2003.
- [85] NOSONOVSKY, M. & BHUSHAN, B.: *Hierarchical roughness makes superhydrophobic states stable*. *Microelectron. Eng.*, 84:382–386, 2007.
- [86] NOSONOVSKY, M. & BHUSHAN, B.: *Hierarchical roughness optimization for biomimetic superhydrophobic surfaces*. *Ultramicroscopy*, 107:969–979, 2007.
- [87] NOSONOVSKY, M. & BHUSHAN, B.: *Multiscale friction mechanisms and hierarchical surfaces in nano- and bio-tribology*. *Mater. Sci. Eng. R.*, 58:162–193, 2007.
- [88] NOSONOVSKY, M. & BHUSHAN, B.: *Roughness induced superhydrophobicity: A way to design non adhesive surfaces*. *J. Phys. Cond. Matter*, 20(22):225009, 2007.
- [89] PETRACEK, P.D. & BUKOVAC M.J.: *Rheological properties of enzymatically isolated tomato fruit cuticle*. *Plant Physiol.*, 109(2):675–679, 1995.
- [90] RASTOGI, A., HOBBS, J.K. & RASTOGI, S.: *Time-resolved WAXD and SAXS investigations on butyl branched alkane at elevated pressures*. *Macromolecules*, 35:5861–5868, 2002.

- [91] REIDERER, M. & SCHÖNHERR, J.: *Effects of surfactants on water permeability of isolated plant cuticles and on the composition of their cuticular waxes*. Pestic. Sci., 29:85–94, 1990.
- [92] RHOADES, D.F.: *Evolution of plant chemical defense against herbivores*. In: Rosenthal, G.A. & Janzen, D.H. (Eds.): *Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites*, S. 1-55. Academic Press, Boston, 1979.
- [93] RIEDERER, M. & SCHNEIDER, G.: *The effect of the environment on the permeability and composition of Citrus leaf cuticles. II. Composition of soluble cuticular lipids and correlation with transport properties*. Planta, 180:54–165, 2003.
- [94] RIEDERER, M. & SCHREIBER, L.: *Waxes - the transport barriers of plant cuticles*. In: Hamilton, R.J. (Ed.): *Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions*, S. 131-156. The Oily Press Ltd., Dundee, 1995.
- [95] RIEDERER, M.: *The cuticles of conifers: structure, composition and transport properties*. In: Schulze, E.D., Lange, O.L. & Oren, R. (Eds.): *Ecological Studies*, Vol. 77, S. 157-192. Springer, Berlin, 1989.
- [96] RIEDERER, M. & MARKSTÄDTER, C.: *Cuticular Waxes: a critical assessment of current knowledge*. In: Kerstiens, G. (Ed.): *Plant Cuticles, an integrated functional approach*, S. 33-82. BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford, 1996.
- [97] RIEDERER, M. & MÜLLER, C.: *Biology of the Plant Cuticle*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, 2006.
- [98] ROACH, P., SHIRTCLIFFE, N.J. & NEWTON, M.I.: *Progress in superhydrophobic surface development*. Soft Matter, 4:224–240, 2008.
- [99] SCHAPER, A.K., YOSHIOKA, T., OGAWA, T. & TSUJI, M.: *Electron microscopy and diffraction of radiation-sensitive nanostructured materials*. J. Microsc., 223:88–95, 2006.

- [100] SCHNEIDER, G.: *Die kutikulären Wachse von Citrus Aurantium L. und Fagus sylvatica L.: Einfluß des Blattalters auf Zusammensetzung und Eigenschaften.* Doktorarbeit, Technische Universität München, 1990.
- [101] SCHÖNHERR, J.: *Resistance of plant surface to water loss: transport properties of cutin, suberin and associated lipids.* In: Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B. & Ziegler, H. (Eds.): *Encyclopedia of plant physiology*, Vol. 12, S. 153-179. Springer, Berlin, 1994.
- [102] SCHULTE, A.J., KOCH, K., SPAETH, M. & BARTHLOTT, W.: *Biomimetic replicas: Transfer of complex architectures with different optical properties from plant surfaces onto technical materials.* *Acta Biomaterialia*, 5:1848–1854, 2009.
- [103] SCHUMANN, K.: *Tabellenbuch Chemie.* Friedrich Vieweg & Sohn, Braunschweig, 1958.
- [104] SHEARER, G.: *On the Distribution of Intensity in the X-Ray Spectra of Certain Long-Chain Organic Compounds.* *Proc. Roy. Soc., A*(108):655–666, 1925.
- [105] SHMUYLOVICH, L., SHEN, A.Q. & STONE, H.A.: *Surface morphology of drying latex films: Multiple ring formation.* *Langmuir*, 18(9):3441–3445, 2002.
- [106] SPORI, D.M., DROBEK, T., ZUERCHER, S., OCHSNER, M., SPRECHER, C., MUEHLEBACH, A. & SPENCER, N.D.: *Beyond the Lotus Effect: Roughness Influences on Wetting over a Wide Surface-Energy Range.* *Langmuir*, 24:5411–5417, 2008.
- [107] TAMURA, H., KNOCHÉ, M. & BUKOVAC, M.J.: *Evidence for Surfactant Solubilization of Plant Epicuticular Wax.* *J. Agric. Food Chem.*, 49:1809–1816, 2001.
- [108] TEGELAAR, E.W.: *Resistant biomacromolecules in morphologically characterized constituents of kerogen: a key to the relationship between biomass and fossil fuels.* Doktorarbeit, University of Utrecht, 1990.

- [109] ULOTH, W.: *Wachsbildungen im Pflanzenreich*. Flora, 25:385–392, 26: 417–425; Tab. 7, 1867.
- [110] VOGG, G., FISCHER, S., LEIDE, J., EMMANUEL, E., JETTER, R., LEVY, A.A. & RIEDERER, M.: *Tomato fruit cuticular waxes and their effects on transpiration barrier properties: functional characterization of a mutant deficient in a very-long-chain fatty acid  $\beta$ -ketoacyl-CoA synthase*. J. Exp. Bot., 55:1401–1410, 2004.
- [111] WANG, S. & JIANG, L.: *Definition of superhydrophobic states*. Adv. Mater., 19:3423–3424, 2007.
- [112] WECKESSER, J., BARTH, J.V. & KERN, K.: *Direct observation of surface diffusion of large organic molecules at metal surfaces: PVBA on Pd(110)*. J. Chem. Physics, 110(11):5351–5354, 1999.
- [113] WEN, M., BUSCHHAUS, C. & JETTER, R.: *Nanotubules on plant surfaces: chemical composition of epicuticular wax crystals on needles of *Taxus baccata* L.* Phytochemistry, 67:1808–1817, 2007.
- [114] WENZEL, R.N.: *Resistance of solid surfaces to wetting by water*. Ind. Eng. Chem., 28:988–994, 1936.
- [115] WHITESIDES, G.M. & BONCHEVA, M.: *Beyond molecules: self-assembly of mesoscopic and macroscopic components*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 99(8):4769–4774, 2002.
- [116] WHITESIDES, G.M. & GRZYBOWSKI, B.: *Self-Assembly at All Scales*. Science, 295(5564):2418–2421, 2002.
- [117] XU, L., ZHU, H., OZKAN, H.E., BAGLEY, W.E., DERKSEN, R.C. & KRAUSE, C.R.: *Adjuvant Effects on Evaporation Time and Wetted Area of Droplets on Waxy Leaves*. Am. Soc. of Agricultural and Biological Engineers, 53(1):13–20, 2010.

- [118] XU, S.Q. & KUMACHEVA, E.: *Ordered Morphologies in Polymeric Films Produced by Replication of Convection Patterns*. J. Am. Chem. Soc., 124:1142–1148, 2003.
- [119] YUNG, Y.C. BHUSHAN, B.: *Wetting behavior during evaporation and condensation of water microdroplet on superhydrophobic patterned surfaces*. J. Microsc., 229:127–140, 2008.
- [120] ZHANG, S.: *Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly*. Nat. Biotechnol., 21(10):1171–1178, 2003.
- [121] ZHANG, S., MARINI, D., HWANG, W. & SANTOSO, S.: *Designing nonbiological materials through self assembly of peptides and proteins*. Curr. Opin. Chem. Biol., 6:865–871, 2002.
- [122] ZHANG, X., SHI, F., NIU, J., JIANG, Y. & WANG, Z.: *Superhydrophobic surfaces: from structural control to functional application*. J. Mater. Chem., 18:621–633, 2008.